REC'D 15 NOV 2000
WIPO PCT

10/069381
PCT/JP00/05772

日本国特許庁

22.09.00

PATENT OFFICE
JAPANESE GOVERNMENT

別紙添付の書類に記載されている事項は下記の出願書類に記載されている事項と同一であることを証明する。
This is to certify that the annexed is a true copy of the following application as filed with this Office.

出願年月日
Date of Application: 1999年 8月26日

出願番号
Application Number: 平成11年特許願第240433号

出願人
Applicant (s): サントリー株式会社
日本製紙株式会社

JP 00/05772
EJV

PRIORITY DOCUMENT

SUBMITTED OR TRANSMITTED IN
COMPLIANCE WITH RULE 17.1(a) OR (b)

2000年10月27日

特許庁長官
Commissioner,
Patent Office 及川耕造

出証番号 出証特2000-3087538

【書類名】　特許願

【整理番号】　993776

【提出日】　平成11年 8月26日

【あて先】　特許庁長官　伊佐山　建志　殿

【国際特許分類】　C12N 15/29

【発明の名称】　サイトカイニンの情報伝達に関与する蛋白質をコードする遺伝子

【請求項の数】　11

【発明者】

【住所又は居所】　大阪府豊中市緑丘２－２－２－２２３

【氏名】　柿本　辰男

【特許出願人】

【識別番号】　000001904

【氏名又は名称】　サントリー株式会社

【特許出願人】

【識別番号】　000183484

【氏名又は名称】　日本製紙株式会社

【代理人】

【識別番号】　100077517

【弁理士】

【氏名又は名称】　石田　敬

【電話番号】　03-5470-1900

【選任した代理人】

【識別番号】　100087871

【弁理士】

【氏名又は名称】　福本　積

【選任した代理人】

【識別番号】　100082898

【弁理士】

【氏名又は名称】　西山　雅也

【手数料の表示】

【予納台帳番号】　036135

【納付金額】　21,000円

【提出物件の目録】

【物件名】　明細書　1

【物件名】　図面　1

【物件名】　要約書　1

【包括委任状番号】　9718791

【包括委任状番号】　9106976

【プルーフの要否】　要

【書類名】　明細書

【発明の名称】　サイトカイニンの情報伝達に関与する蛋白質をコードする遺伝子

【特許請求の範囲】

【請求項１】　配列番号：２に記載のアミノ酸配列を有し、サイトカイニンの情報伝達に関与する蛋白質をコードする遺伝子。

【請求項２】　配列番号：２に記載のアミノ酸配列に対して１個又は複数個のアミノ酸の付加、欠失及び／又は他のアミノ酸による置換により修飾されているアミノ酸配列を有し、且つサイトカイニンの情報伝達に関与する蛋白質をコードする遺伝子。

【請求項３】　配列番号：１に記載の塩基配列を有する核酸又はその部分と、ストリンジェント条件下でハイブリダイズし、且つサイトカイニンの情報伝達に関与する蛋白質をコードする遺伝子。

【請求項４】　前記蛋白質が、ヒスチジンプロテインキナーゼである請求項１～３のいずれか１項記載の遺伝子。

【請求項５】　請求項１～４のいずれか１項に記載の遺伝子を含んでなるベクター。

【請求項６】　請求項５に記載のベクターにより形質転換された宿主。

【請求項７】　請求項１～４のいずれか１項に記載の遺伝子によってコードされる蛋白質。

【請求項８】　請求項６に記載の宿主を培養し、又は成育させ、そして該宿主からヒスチジンプロテインキナーゼ活性を有する蛋白質を採取することを特徴とする該蛋白質の製造方法。

【請求項９】　請求項１～４のいずれか１項に記載の遺伝子が導入された植物又は植物細胞。

【請求項１０】　請求項１～４のいずれか１項に記載の遺伝子を植物又は植物細胞に導入し、該遺伝子を発現せしめることによる植物又は植物細胞の成長を調節する方法。

【請求項１１】　請求項１～４のいずれか１項に記載の遺伝子を植物又は植

物細胞に導入し、該遺伝子を発現せしめることによる植物又は植物細胞の不定芽形成を誘導する方法。

【発明の詳細な説明】

【０００１】

【発明の属する技術分野】

本発明はサイトカイニンの情報伝達に関与する蛋白質をコードする遺伝子ならびにその利用方法に関するものである。

【０００２】

【従来の技術】

サイトカイニンは植物の形態形成や生理現象において重要な役割を果たす植物ホルモンの一種で、６－アミノプリンの６位のアミノ基に、通常、炭素数５の置換基が結合した基本骨格をもち、その側鎖に様々な修飾を受けた一連の誘導体の総称である。サイトカイニンは、同じく植物ホルモンの一種であるオーキシンとの相互作用によって、組織培養系での植物の分裂や分化、新たな器官形成を制御する。器官形成に関して言えば、オーキシンはカルス、葉、茎等からの根の形成を促進するのに対して、サイトカイニンは、芽の形成を促進する。サイトカイニンを通常の植物体に与えた場合、側芽の伸長促進、根の成長阻害、花、葉、果実等の老化防止などの効果を示す。種子に与えた場合、植物種によっては発芽促進効果を持つ。

【０００３】

以上のような様々な生理作用は、細胞によるサイトカイニンの受容と細胞内化学信号への変換、その信号の伝達、そしてその下流に位置する様々な標的遺伝子の発現制御の結果と考えられる。

サイトカイニン合成系の調節が、サイトカイニンの示す様々な生理機能の制御につながっていることは明白であるにも関らず、植物においてサイトカイニンの合成がどのような分子機構によって制御されるのかは明らかではない。

【０００４】

サイトカイニンの情報伝達系に関しては、最近、少なくともその一部に２成分制御系（two-component system）によるリン酸基転移反応が関与することが、明

らかにされた（Kakimoto, Scinece, 274,p982-985,1996、柿本、細胞工学、別冊植物細胞工学シリーズ１０、p75-84、1998）。２成分制御系とは原核生物に多く存在する情報伝達系であり、基本的にはセンサー・ヒスチジンキナーゼとレスポンスレギュレーターと呼ばれる２つの蛋白質が関与している。

【０００５】

多くのヒスチジンキナーゼは、そのＮ末端領域で細胞膜を貫通しており、このＮ末端領域が外界シグナルを受容するが、細胞質局在型のヒスチジンキナーゼでは、受容体からの情報を仲介する役割を果たすものが多い。センサー・ヒスチジンキナーゼのインプットドメインがシグナルを感知すると、そのヒスチジンキナーゼドメイン中の特定のヒスチジン残基がリン酸化される。続いて、このリン酸基は２成分制御系のもう一方の蛋白質であるレスポンスレギュレーターの特定のアスパラギン酸残基へ転移され、このリン酸化の有無がその下流の情報伝達系や標的遺伝子の発現調節へとつながっていく。

【０００６】

２成分制御系によっては、リン酸基はセンサー・ヒスチジンキナーゼから、一旦リン酸基転移メディエーターと呼ばれる蛋白質に移され、最終的にレスポンスレギュレーターに移される場合もある。例えば酵母（Saccharomyces cerevisiae）の浸透圧調節系では、リン酸基はセンサー・ヒスチジンキナーゼである浸透圧受容体SLN1から、リン酸基転移メディエーターであるYPD1へ移され、次にレスポンスレギュレーターであるSSK1に移される。原核生物が多くの２成分系を介した情報伝達機構をもつことは知られているが、最近真菌や植物でも２成分制御系因子が重要な働きをしていることが分かってきた。例えば、酵母の浸透圧調節系や植物のエチレン情報伝達系等である。

【０００７】

そこで、本発明者は、サイトカイニンの合成、または情報伝達系に関与する遺伝子の転写量が増大すれば、サイトカイニン非存在下でもサイトカイニン応答が引き起こされるのではないかと考え、アクテイベーションタギング（activation tagging）をおこなった。これは、植物ゲノムにランダムにエンハンサー配列を導入することにより、挿入エンハンサー近くの植物遺伝子の転写を活性化し、優

性の突然変異体を得る方法である。本発明者は、アクテイベーションタギング用に開発されたベクターpPCVICEn4HPT (Hayashi et al., Science,258, p1350-1353, 1992) で約5 万個以上のシロイヌナズナ (Arabidopsis thaliana) のカルスを形質転換した。

【０００８】

pPCVICEn4HPTにはT-DNA 上にカリフラワーモザイクウイルス35SRNA遺伝子のエンハンサー由来の強力なエンハンサー配列が配置されており、アグロバクテリウムを介して植物のゲノムに挿入された後に、このエンハンサーに隣接する遺伝子の転写が活性化される。例えば、サイトカイニンの合成系、受容、情報伝達系に関る遺伝子の近傍にT-DNA が挿入されれば、この形質転換体はサイトカイニン非存在下でも典型的なサイトカイニン応答を示すことが期待される。発明者は形質転換された5 万個以上のカルスを植物ホルモンを含まない培地で培養し、典型的なサイトカイニン応答である細胞増殖、不定芽形成を示した形質転換カルス4 系統を分離した。

【０００９】

これらをサイトカイニン非要求性突然変異体 (cytokinin independent; cki1) と名付けた。これらは細胞増殖、不定芽形成、緑化を示し、根を形成せず、不稔であった。これら4 系統では同一遺伝子の上流にT-DNA が挿入されており、原因遺伝子CKI1の解析の結果、CKI1遺伝子のコードする蛋白質は2 成分制御系のセンサー・ヒスチジンキナーゼに特徴的な配列を有し、N 末端には膜貫通領域と思われる疎水性の領域が2 個所存在した。

【００１０】

CKI1を植物体で過剰発現させると典型的なサイトカイニン応答を引き起こすことが示された (Kakimoto, Science 274: 982-985, 1996) 。また、CKI1遺伝子を酵母で発現させると、酵母において浸透圧調節の2 成分制御系因子であるYPD1へリン酸基を転移することを示唆する結果も得られている。これらのことから、CKI1はサイトカイニンの受容体であり、サイトカイニンの刺激をリン酸基転移という化学信号へ変換し、下流の因子へ伝達する機能をもつことが示唆された。

【００１１】

また、榊原ら（Plant J, 14, p337-344, 1998 ）によってトウモロコシの葉をサイトカイニンで処理することによって発現が誘導される遺伝子ZmCiplや、シロイヌナズナをサイトカイニンで処理することにより発現誘導されるIBC6等の遺伝子が、2 成分制御系のレスポンスレギュレーターをコードすることが報告されており、サイトカイニン情報伝達系においても2 成分制御系が関与すると考えられる。以上の事実は、これらレスポンスレギュレーターはサイトカイニン受容体であるヒスチジンキナーゼの下流で働いている可能性を示している。

【００１２】

しかしながら、サイトカイニンの情報伝達系が、上記のCKI1やZmCip1蛋白質によってどのように構成されているかは未だ明らかではない。例えば、サイトカイニン受容体候補のヒスチジンキナーゼCKI1から下流のレスポンスレギュレーターへのリン酸基転移に、リン酸基転移メディエーターが関わっているのかどうかは不明である。また、複数のサイトカイニン受容体が存在し、複数の並行した情報伝達系が独立して、あるいはこれら情報伝達系の間で相互に影響を及ぼしながらサイトカイニンの情報が伝達されていくかどうかも不明であり、今後解決すべき課題のひとつである。

【００１３】

【発明が解決しようとする課題】

そこで本発明は、サイトカイニンの情報伝達系に関与する2 成分制御系の新たな因子およびそれをコードする遺伝子及びそれによりコードされる蛋白質、並びにその用途を提供しようとするものである。

【００１４】

【課題を解決するための手段】

本発明者は、シロイヌナズナ（Arabidopsis thaliana）を用いてアクティベーショタギングを行い、サイトカイニンの情報伝達系に関与する２成分制御系の因子をコードする新たな遺伝子を得た。

従って本発明は、サイトカイニンの情報伝達系に関与する蛋白質をコードする遺伝子を提供する。具体的には、この遺伝子は、2 成分制御系のヒスチジンプロテインキナーゼ活性を有する蛋白質をコードするものである。この遺伝子がコー

ドする蛋白質は細胞質に可溶性であると予測され、そのような性質のヒスチジンプロテインキナーゼをコードする遺伝子は、植物では未報告である。

【００１５】

より具体的には、本発明は配列番号：２に記載のアミノ酸配列を有し、サイトカイニンの情報伝達に関与する蛋白質をコードする遺伝子を提供する。本発明はまた、配列番号：２において１又は複数のアミノ酸の付加、欠失及び／又は他のアミノ酸による置換により修飾されたアミノ酸配列を有し、且つサイトカイニン情報伝達に関与する活性を有する蛋白質をコードする遺伝子を提供する。本発明はさらに、配列番号：１に記載する核酸、特にDNA 又はその部分とハイブリダイズし、且つサイトカイニンの情報伝達に関与する蛋白質、特にヒスチジンプロテインキナーゼ活性を有する蛋白質をコードする遺伝子を提供する。

【００１６】

本発明はまた、上記遺伝子を含んでなるベクターを提供する。

本発明はさらに、上記ベクターにより形質転換された宿主を提供する。この宿主は植物細胞であっても、植物体であってもよい。

本発明はまた、上記宿主を培養、栽培することによる、サイトカイニンの情報伝達に関与する蛋白質の製造方法を提供することができる。

本発明はまた、上記遺伝子を植物又は植物細胞に導入し、該遺伝子を発現せしめることによる植物又は植物細胞の成長を調節する方法を提供することができる。即ち、本遺伝子を発現させることにより、不定芽の形成を促進、側芽の休眠打破、花や葉の老化・果実の成熟防止、花の日持ち性向上や光合成機能の維持、果実の肥大促進・落下防止、花形成の制御等のサイトカイニンが関与する様々の生理作用を調節することができる。

【００１７】

【発明の実施の形態】

発明者らは、CKI1遺伝子を単離した際と同様のアクテイベーションタギング（activation tagging）によって、サイトカイニンの情報伝達系に関与する新たなタンパク質遺伝子により変異が導入されたものが得られるのではないかと考えた。そこで、アクテイベーションタギング用ベクターpPCVICEn4HPTをアグロバクテ

リウムを介して導入したシロイヌナズナ形質転換体カルスをサイトカイニンを含まない培地上でスクリーニングし、サイトカイニン非存在下でも不定芽を形成した突然変異体を分離した。このうち、cki2と名付けた変異体カルスは、野性株のカルスとは異なり、サイトカイニン非存在下でも盛んに細胞増殖を行い、不定芽を形成することができた。

【００１８】

cki2変異体からCKI2遺伝子ならびにCKI2 cDNA を単離し解析した結果、CKI2遺伝子は2 成分制御系の植物のヒスチジンプロテインキナーゼと相同なタンパク質をコードすることが明らかとなった。特に高い相同性は、ヒスチジンプロテインキナーゼの2 つの機能性領域である、ヒスチジンキナーゼドメインとレシーバードメインに見られた。

cki2変異株の表現型は、サイトカイニン非存在下でも不定芽を形成するという点では既に公知のcki1変異株と類似しているが、CKI2とCKI1蛋白質の全体構造並びにアミノ酸配列は、機能の異なるヒスチジンキナーゼ間の一般的な相同性のレベルであり、CKI2とCKI1が特に高い相同性を示すものではない。

【００１９】

また、予測されるタンパク質は、全体構造と細胞内局在性にも大きな違いがある。

CKI2 cDNA の一部をシロイヌナズナカルスに導入し過剰発現させたところ、cki2変異体の表現型からも推測されるように、形質転換体では培地中のサイトカイニンの有無に関わらず盛んな細胞増殖を行い、不定芽を形成することができた。

以上のことから、CKI2遺伝子はサイトカイニンの情報伝達に関与する新たなヒスチジンプロテインキナーゼをコードすることが明らかになった。

【００２０】

本発明の遺伝子としては、例えば、配列番号：２に記載のアミノ酸配列をコードするものが挙げられる。しかしながら、複数個のアミノ酸の付加、欠失および／または他のアミノ酸による置換によって修飾されたアミノ酸配列を有するタンパク質ももとのタンパク質と同様の活性を維持することが知られている。従って本発明は、配列番号：２に記載のアミノ酸配列に対して1 個または複数個のアミ

ノ酸の付加、欠失および／または他のアミノ酸との置換によって修飾されたアミノ酸配列を有し、且つサイトカイニンの情報伝達に関与する蛋白質特にヒスチジンプロテインキナーゼ活性を有する蛋白質をコードする修飾された遺伝子も本発明に属する。

【００２１】

ここで、この修飾の程度は、本件出願の前に周知技術となっている手段、例えば部位特定変異誘発、PCR 法等により可能な程度である。ヒスチジンプロテインキナーゼ活性を維持しながら修飾の対象となるアミノ酸の数は、例えば100 個以下、例えば50個以下、好ましくは25個以下、例えば10個以下である。

本発明はまた、配列番号：１に記載の塩基配列を有する核酸例えばDNA 、又はその部分と、ストリンジエント条件下でハイブリダイズすることができ、且つヒスチジンプロテインキナーゼ活性を有する蛋白質をコードするDNA からなる遺伝子を提供する。ここでストリンジエント条件とは、例えば5xSSC 、50℃の条件下でハイブリダイズする条件をいう。なお適切なハイブリダイゼーションの温度は塩基配列やその塩基配列の長さによって異なり、適宜選択して実施することができる。

【００２２】

また、上記の核酸の部分とは、少なくとも数個の連続するアミノ酸配列をコードする部分であり、好ましくはヒスチジンキナーゼドメインあるいはレシーバードメイン内の連続する数個のアミノ酸配列をコードする部分である。例えば、よく保存されている配列として知られている配列を使用することができる（Albright et al. Annu.Rev.Genet. 23, p311-336,1989 、Mizuno, J.Biochem. 123, p555-563,1998)。より好ましくは、配列番号：１に記載の配列のうち、ヒスチジンキナーゼドメインあるいはレシーバードメインの配列の一部又は全てを含み、且つ配列番号：１に記載の全コード配列に対して、25％以上、例えば50％以上、さらに好ましくは75％以上の長さを有する部分又は断片を意味する。

【００２３】

上記ハイブリダイゼーションの対象としての遺伝子源としては、サイトカイニンの情報伝達に関与する蛋白質、特にヒスチジンプロテインキナーゼを有する植

物、微生物などから調製されるcDNAライブラリー、ゲノムDNA ライブラリー等を使用することができ、例えば、植物としてシロイヌナズナ、トウモロコシ、ポプラ、ペチュニア、タバコ、イネ、トマト、ユーカリ等が挙げられる。

【００２４】

このようにして得られる、サイトカイニンの情報伝達に関与する蛋白質をコードする遺伝子の塩基配列は、配列番号：１に示す塩基配列に対して、50%以上、60%以上、好ましくは70%以上又は80%以上、例えば90%以上の相同性を有する。

配列番号：２に示すアミノ酸配列を有する蛋白質をコードする本遺伝子は、cDNAまたはゲノムDNA として、シロイヌナズナから得ることができる。

【００２５】

生来の塩基配列を有する遺伝子は実施例に具体的に示すように、例えばcDNAライブラリーのスクリーニングによって得られる。また、修飾されたアミノ酸配列を有する蛋白質をコードするDNA は生来の塩基配列を有するDNA を基礎として、常用の部位特定変異誘発やPCR 法を用いて合成することができる。例えば修飾を導入したいDNA 断片を生来のcDNAまたはゲノムDNA の制限酵素処理によって得、これを鋳型にして、所望の変異を導入したプライマーを用いて部位特異的変異誘発またはPCR 法を実施し、所望の修飾を導入したDNA 断片を得る。その後、この変異を導入したDNA 断片を目的とする蛋白質の他の部分をコードするDNA 断片と連結すればよい。

【００２６】

あるいはまた、短縮されたアミノ酸配列からなる蛋白質をコードするDNA を得るには、例えば目的とするアミノ酸配列より長いアミノ酸配列、例えば全長アミノ酸配列をコードするDNA を所望の制限酵素により切断し、その結果得られたDNA 断片が目的とするアミノ酸配列の全体をコードしていない場合は、不足部分の配列からなるDNA 断片を合成し、連結すればよい。

【００２７】

得られた遺伝子を大腸菌および酵母での遺伝子発現系を用いて発現させることにより、遺伝子産物であるヒスチジンプロテインキナーゼを得ることができる。

あるいはまた、配列番号：２に記載のアミノ酸配列を有する蛋白質に対する抗体を用いても、ヒスチジンプロテインキナーゼを得ることができ、抗体を用いて他の生物のヒスチジンプロテインキナーゼをクローン化することもできる。

【００２８】

従って本発明はまた、前述の遺伝子を含む組換えベクター、特に発現ベクター、及び当該ベクターによって形質転換された宿主に関するものである。宿主としては、原核生物または真核生物を用いることができる。原核生物としては細菌、例えばエシェリヒア（Escherichia）属に属する細菌、例えば大腸菌（Escherichia coli）、バシルス（Bacillus）属微生物、例えばバシルス．スブシルス（Bacilius subtilis）など常用の宿主微生物を用いることができる。

【００２９】

真核性宿主としては、下等真核生物、例えば真核性微生物である酵母または糸状菌が使用できる。酵母としては例えばサッカロミセス（Saccharomyces）属微生物、例えばサッカロミセス．セレビシエ（Saccharomyces cerevisiae）等が挙げられ、また糸状菌としてはアスペルギルス（Aspergillus）属微生物、例えばアスペルギルス．オリゼ（Aspergillus oryzae）、アスペルギルス．ニガー（Aspergillus niger）、ペニシリウム（Penicillium）属微生物が挙げられる。さらに動物細胞または植物細胞が使用でき、動物細胞としては、マウス、ハムスター、サル、ヒト等の細胞系が使用される。植物細胞としては、タバコの培養細胞、ポプルス属、ユーカリ属、アカシア属等の培養細胞が使用できる。

【００３０】

さらに昆虫細胞、例えばカイコ細胞、またはカイコの成虫それ自体も宿主として使用される。具体的には、昆虫細胞、例えばヨガ細胞（Spodoptera frugiperda）、キャベツルーパー細胞（Trichoplusia ni）、カイコ細胞（Bombyx mori）、動物細胞、例えばヒト細胞、サル細胞、マウス細胞等、具体的にはCOS 細胞、Vero 細胞、CHO 細胞、Ｌ細胞、C127細胞、BALB/c 3T3細胞、Sp-2/0細胞等を用いることもできる。

【００３１】

発現ベクターとしては、プラスミド、ファージ、ファージミド、ウィルス（バ

キュロ（昆虫）、ワクシニア（動物細胞））等が使用できる。

本発明の発現ベクターはそれらを導入すべき宿主の種類に依存して発現制御領域、例えばプロモーターおよびターミネーター、複製起点等を含有する。細菌用発現ベクターのプロモーターとしては、常用のプロモーター、例えばtrc プロモーター、tac プロモーター、lac プロモーター等が使用され、酵母用プロモーターとしては、例えばグリセルアルデヒド３リン酸デヒドロゲナーゼプロモーター、PH05プロモーター、adhIプロモーター、pqk プロモーター等が使用され、糸状菌用プロモーターとしては例えばアミラーゼ、trpC等が使用される。

【００３２】

また、昆虫用プロモーターとしてはバキュロウィルスポリヘドリンプロモーター等、動物細胞用プロモーターとしてはSimian Virus 40 のearly およびlateプロモーター、CMV プロモーター、HSV-TKプロモーターまたはSRαプロモーター等が挙げられる。植物用プロモーターとしては、カリフラワーモザイクウイルスの35S プロモーター、ノパリン合成酵素のプロモーター、誘導型プロモーターとしては、グルタチオンーＳートランスフェラーゼII系遺伝子のプロモーター、hsp80 プロモーター、リプロース２リン酸カルボキシラーゼ小サブユニット遺伝子のプロモーター等が挙げられる。

【００３３】

また、発現ベクターには、以上の他にエンハンサー、スプライシングシグナル、ポリＡ付加シグナル、選択マーカー（例えばジヒドロ葉酸還元酵素遺伝子（メトトレキセート耐性）、neo 遺伝子（G418耐性）等）等を含有しているのを用いるのも好ましい一態様である。なお、エンハンサーを使用する場合、例えばSV 40 のエンハンサー等を遺伝子の上流または下流に挿入する。

【００３４】

発現ベクターによる宿主の形質転換は、当業者においてよく知られている常法により行うことができ、これらの方法は例えば、Current Protocols In Molecular Biology, John Wiley & Sons 社、1995年、に記載されている。形質転換体の培養も常法に従って行うことができる。培養物からのサイトカイニンの情報伝達に関与する蛋白質の精製は、タンパク質を単離・精製するための常法に従って、

例えば、限外ろ過、各種カラムクロマトグラフィー、例えばセファロースを用いるクロマトグラフィー等により行うことができる。

【００３５】

現在の技術水準をもってすれば、さらに、このcDNAあるいは遺伝子を構成的なあるいは誘導型のプロモーターの制御下に連結し、アグロバクテリウムを用いるシステムあるいはパーティクルガン、エレクトロポーレーション等を用いるシステムで、この遺伝子を植物に導入し発現させることで、植物ホルモンによる人為調節によっても個体再生が困難な植物、例えば、バラなどにおいても、不定芽形成を促進することが可能である。さらに、CKI2遺伝子の発現を制御することで、サイトカイニンが植物体において示す様々な生理作用、例えば、側芽の伸長や老化防止、花形成時期、果実の肥大促進、果実の落下防止などを調節することが可能である。

【００３６】

【実施例】

以下、実施例に従って、発明の詳細を述べる。分子生物学的手法は特に断らない限り、Molecular Cloning （Sambrook et al. 1989）に依った。

実施例１．サイトカイニン応答突然変異体のスクリーニング

サイトカイニンの合成または情報伝達系に関与した遺伝子の転写量を増大させ、サイトカイニン非存在下でもサイトカイニン応答を示す突然変異体を得るため、シロイヌナズナ（Arabidopsis thaliana）を用いてアクテイベーションタギングを行った。

【００３７】

50,000個以上のシロイヌナズナのカルスを赤間らの方法（Akama et al., Plant Cell Rep.,12, 7-11, 1992）に従い、アクテイベーションタギング用ベクターpPCVICEn4HPT（Hayashi et al., Science, 258, p1350-1353, 1992）で形質転換した。なお、pPCVICEn4HPTにはカリフラワーモザイクウイルス35ＳRNA 遺伝子プロモーターに由来する強力なエンハンサー配列が存在し、植物のゲノムに挿入された後に、このエンハンサー配列に隣接する遺伝子の転写が活性化される。

【００３８】

形質転換されたカルスを植物ホルモンを含まない培地上で培養した。野生型シロイヌナズナカルスはサイトカイニンを含まない培地上では細胞増殖が抑えられ、不定芽形成を行うことができないが、サイトカイニンが存在すると、不定芽を形成する。しかし、形質転換体の中には、サイトカイニンが存在しないにも関わらず、典型的なサイトカイニン応答を示し、不定芽を形成したカルスが得られた。

【００３９】

このうち、cki1-1、cki1-2、cki1-3、cki1-4と命名した4 系統は同一遺伝子の過剰発現が原因となっており、その原因遺伝子CKI1に関しては本発明者らによってすでに報告されている（Kakimoto, Science, 274：982 －985 , 1996）。このcki1の4 系統に加えて、cki1と類似した表現型、すなわちサイトカイニン非存在下において、細胞増殖が野生型カルスよりも明らかに盛んで、不定芽形成を示すが、原因遺伝子がcki1の原因遺伝子とは異なる突然変異体cki2を得た。

【００４０】

実施例２．cki2突然変遺体の原因遺伝子の単離

cki2突然変異体からゲノムDNA を精製し、制限酵素SphIで消化後、T4 DNA リガーゼを用いて自己環状化を行った。これを大腸菌に導入し、アンピシリン耐性のコロニーからプラスミドを精製した。このプラスミドは、T-DNA とcki2突然変異体のゲノム中、T-DNA のright border (RB) に隣接するDNA 配列を含む。

【００４１】

cki2突然変異体ならびに野生型シロイヌナズナの植物体全体から抽出したRNAからoligotex dT-30（日本ロッシュ社）によってmRNAを精製し、これを鋳型とし、ラムダZAPII cDNAライブラリー合成キット(Stratagene 社) を用いて、Stratagene社の推奨する方法によりcDNAライブラリーを作製した。これらcki2突然変異体並びに野生型シロイヌナズナのcDNAライブラリーを、前述のようにして得られたcki2突然変異体のRBに隣接するゲノム配列をプローブとしてスクリーニングした。

【００４２】

野生型cDNAライブラリーから得られたCKI2 cDNA の塩基配列を決定し、配列表

の配列番号：１に示す。2 成分制御系のヒスチジンプロテインキナーゼと相同なアミノ酸配列をコードし、特にヒスチジンプロテインキナーゼの2 つの機能性領域であるヒスチジンキナーゼドメインとレシーバードメインにおいて高い相同性を示すことが明らかとなった。例えば、エチレンの受容体と考えられているセンサー・ヒスチジンキナーゼETR1とは、ヒスチジンキナーゼドメインで35%、レシーバードメインで25%、原核生物Pseudomonas のセンサー・ヒスチジンキナーゼであるLemAとはヒスチジンキナーゼドメインで41%、レシーバードメインで26%、本発明者らにより報告されているCKI1とは、ヒスチジンキナーゼドメインで32%、レシーバードメインで26%のアミノ酸残基の同一性を示した。

【００４３】

なかでも、多くの2 成分制御系因子間でよく保存されているアミノ酸残基はCKI2でもよく保存されていた。しかし、CKI2タンパク質のN 末端約360 アミノ酸からなる配列については、既知配列との有意な相同性は見出されていない。また、ETR1やCKI1などのセンサーヒスチジンキナーゼでは、N 末端に膜貫通領域が存在するが、CKI2タンパク質のN 末端には膜貫通領域に特徴的な疎水性領域は見出されなかった。CKI2遺伝子産物は細胞質に存在すると予測される。

【００４４】

cki2突然変異体のcDNAライブラリーから得られたcDNAの塩基配列を決定し、前述の野生型cDNAライブラリーから得られたCKI2のｃDNA の塩基配列と比較した結果、cki2変異体ではT-DNA がCKI2のコード領域の5'末端側から249 塩基と250 塩基の間（翻訳開始コドンのATG のA を1 番目とする）に挿入され、T-DNA 上のエンハンサー配列の途中から転写が始まっていることが明らかとなった。このことはcki2変異体中で5 ' 末端を欠損したCKI2遺伝子の転写産物が生じ、N 末端を欠損したCKI2タンパク質が合成されていることを示す。エンハンサー配列によって、このN 末端欠損型CKI2タンパク質は構成的に生成するため、cki2変異体がサイトカイニン非存在下でもサイトカイニン応答を示したものと考えられた。

【００４５】

また、シロイヌナズナWassileuskija(WS株) のCKI2遺伝子のゲノム配列は、次のようにして決定した。まず、シロイヌナズナWS株の全ゲノムDNA を鋳型に、プ

ライマーNo.163(5'-CGCGGATCCACCATGGTCTGTGAAATGGAGAC-3')（配列番号：７）とプライマーNo.154(5'-CCGCTCGAGTCAGTGCAAATACTGTTGCAAAC-3')（配列番号：８）を用いてPCR で増幅（LA Taq (Takara) を使用し、反応条件は、 96 度1 分の後、96度1 分、52度1 分、68度3 分のサイクルを4 回行い、さらに96度1 分、57度1 分、68度3 分のサイクルを26回行い、さらに68度,10 分反応）したCKI2遺伝子のコード領域の塩基配列を決定した。

【００４６】

cki2変異体のゲノムDNA をBamHI で消化し、T4-DNAリガーゼを用いて自己環状化を行った。これを大腸菌DH10B 株に導入し、アンピシリン耐性を示したコロニー由来の大腸菌からプラスミドを精製した。このプラスミドは、cki2変異体のゲノム中、T-DNA のleft border (LB)に隣接するDNA 配列を含む。LBに隣接したDNA はCKI2遺伝子の、T-DNA 挿入点より上流のコード領域と、さらに上流のプロモーターを含むと考えられる配列も含む。このプラスミドの塩基配列の一部を決定し、配列番号：1 に記載のCKI2 cDNA の配列と組み合わせることにより、CKI2のコード領域とその上流配列を含むゲノム配列を決定した。これを配列番号：３に示す。また、それによりコードされるアミノ酸配列を配列番号：４に示す。

【００４７】

また、同様にシロイヌナズナLandsberg erecta (er) からもプライマーNo.163とプライマーNo.177 (5'-GGGGTACCTCAGTGCAAATACTGTTGCAAAC-3') （配列番号：９）を用いてPCR(LA Taq (Takara) 使用、94度1 分の後、94度30秒、 52 度30秒、68度3 分のサイクルを30回行い、さらに68度7 分反応）を行い、増幅されたDNA の塩基配列を決定した。この配列をWS株のCKI2のコード領域の塩基配列と比較したところ、99.6% 同一であったので、これをLandsberg er株のCKI2遺伝子の配列であるとした。

【００４８】

このシロイヌナズナ Landsberg er 株のCKI2ゲノム遺伝子の塩基配列を配列番号：５に示す。予想されるエクソンの配列から予測される蛋白質のアミノ酸配列は、シロイヌナズナLandsberg er株と、WS株の間で３つのアミノ酸残基の違いがあった。これによりコードされるアミノ酸配列を配列番号：６に示す。

【００４９】

実施例3. CKI2遺伝子の過剰発現

i)形質転換用バイナリーベクターの改良

植物形質転換用バイナリーベクターとして広く用いられているpBI121(Jefferson, R.A. et al., EMBO J, 6: 3901-3907, 1987)は、T-DNA 領域にカリフラワーモザイクウイルス35S-RNA 遺伝子のプロモーター(35Sプロモーター) とノパリン合成酵素(NOS) 遺伝子のターミネーターの間にベーターグルクロニダーゼ(GUS) 遺伝子が配置されている。

【００５０】

また、pBE2113-GUS (Mitsuhara, I. et al., Plant Cell Physiol., 37: 49-59, 1996) は、pBI121を基本とし、プロモーターの活性を増強するためにエンハンサー配列が追加され、さらに翻訳促進配列オメガが付加されている。

pBI121またはpBE2113-GUS を用いて特定の遺伝子を植物で過剰発現するためには、二種類の制限酵素を用いてGUS 遺伝子を除き、代わりにその部分に特定の遺伝子をクローン化する。しかしながら、pBI121でもpBE2113GUSでもGUS 遺伝子を除くために用いる酵素のうちGUS 遺伝子の3'側を切断する酵素としてはSacIしか用いることができないので、新しいクローニング部位を導入することにした。

【００５１】

また、pBI121およびpBE2113-GUS のどちらにもNOS 遺伝子のターミネーター配列が二カ所に存在し、一つのベクター内に同一の配列があることは、アグロバクテリア内や、形質転換植物内でのT-DNA の安定性を低下させる恐れがある。そこで、これらそれぞれのベクターからGUS 遺伝子とその下流に存在するNOS 遺伝子のターミネーター配列を除き、替わりにカリフラワーモザイクウイルス35S-RNA 遺伝子のターミネーター(35Sターミネーター) を挿入した。

【００５２】

プラスミドp1'barbi (Mengiste, T., Plant J.,12:945-948, 1997)を鋳型とし、プライマーとしてプライマーNo.271(5'-TACCCGGGGGTACCGTCGACCTGCAGGCATGCC-3') （配列番号：１０）及びプライマーNo.272 (5'-AAACGACGGCCAGTGAATTCGAGTTCGGCACC-3') （配列番号：１１）を用いて増幅 (LA Taq (Takara) 使用、94度1

分反応後、 94 度30秒、52度30秒、68度30秒のサイクルを15回行い、 68 度3 分反応）したDNA(35S-ターミネーターを含む）をSmaIとEc RI で処理したDNA 断片と、pBI121からGUS 遺伝子とNOS 遺伝子のターミネーターをSmaIとEcoRI 処理により除いたDNA 断片とをライゲーションし、これをpBI35T（図１）と名付けた。

【００５３】

pBI35Tにおいて、35S-プロモーターと35S ターミネーターの間にあるマルチクローニングサイト中のユニークサイトは、35S プロモーターに近い側からXbaI，BamHI，KpnI，SalI となる。また、同様にp1'barbiを鋳型に、プライマーとしてプライマーNo.271とプライマーNo.272を用いて増幅したDNA(35S ターミネーターを含む）をSmaIとEcoRI で処理したDNA 断片と、pBE2113-GUS からGUS 遺伝子とNOS 遺伝子のターミネーターをSmaIとEcoRI 処理により除いたpBE2113-GUS 由来のDNA 断片をライゲーションし、pEL2omega35T（図４）を得た。pEL2omega35T中の、強化された35S プロモーターと35S ターミネーターの間のマルチクローニングサイト中のユニークサイトは、35S プロモーターに近い側から、XbaI，BamHI，KpnI，SalI である。

【００５４】

ii) CKI2遺伝子発現のためのプラスミド作製

CKI2のcDNAを含む大腸菌は生育が悪かったので35S プロモーターの下流にクローン化するのは難しいと予測された。そこで、CKI2遺伝子の全体、あるいは一部を植物で過剰発現するための実験にはCKI2のゲノムDNA を用いることにした。そこで、Lambda TI2ベクターに構築されたシロイヌナズナLandsberg er株のゲノムライブラリー (Fuse, T. et al., Plant J. 7:849-856, 1995)をスクリーニングし、CKI2遺伝子を含むクローン(LambdaTi.CKI2-2) を単離した。

【００５５】

このクローンのCKI2のコード領域の配列は配列番号：５に一致している。LambdaTi.CKI2-2 を鋳型に、プライマーNo.163とプライマーNo.177を用いてPCR で増幅 (LA Taq (Takara) 使用，94度1 分で反応後、94度30秒、50度 30 秒、68度3分のサイクルを13回行い、さらに68度7 分反応）し、pCR-ScriptSK(+) の、制限酵素srfI認識部位に平滑末端でクローン化し、プラスミドpCKI2.3LD1を得た。pC

KI2.3LD1のCKI2遺伝子部分の塩基配列はシロイヌナズナLandsberg er株のCKI2遺伝子の塩基配列と一致した。

【００５６】

pCKI2.3LD1をKpnIとBamHI で切断後、CKI2遺伝子を含む断片を、 pBI35T のKpnIサイトとBamHI サイトの間および、pEL2omega35TのKpnIサイトとBamHI サイトの間にクローン化し、それぞれ、pBI35T.CKI2.163 （図２）、pEL2omega35T.CKI2.163 （図５）と名づけた。この二つのクローンにはCKI2遺伝子のコード領域の全体が、35S プロモーターに対してセンス方向にクローン化されている。

【００５７】

また、LambdaTi.CKI2-2 を鋳型に、プライマーNo.162 (5'-CGCGGATCCACCATGCTTGAGGCGAGTACTG-3')（配列番号：１２）とプライマーNo.177を用いてPCR で増幅（LA Taq (Takara) 使用，94度1 分で反応後、94度30秒、50度 30 秒、68度3 分のサイクルを13回行い、さらに68度7 分反応）し、pCR-Script SK(+)の、制限酵素SrfI認識部位に平滑末端でクローン化し、プラスミドpCKI2.2L16を得た。pCKI2.2L16のCKI2遺伝子部分の塩基配列はシロイヌナズナLandsberg er株のCKI2遺伝子の塩基配列と一致した。

【００５８】

pCKI2.2L16をKpnIとBamHI で切断後、CKI2遺伝子の部分を含む断片を、 pBI35T のBamHI サイトとKpnIサイトの間および、pEL2omega35TとBamHI サイトとKpnIサイトの間にクローン化し、それぞれ、pBI35T.CKI2.162 （図３）、pEL2omega35T.CKI2.162 （図６）と名づけた。この二つのクローンは、CKI2遺伝子がコードする蛋白質の178 番目のメチオニンからカルボキシル末端までをコードする。

【００５９】

CKI2遺伝子が、CKI2蛋白質の全体領域または、178 番目のメチオニン以降の領域として過剰発現することにより、サイトカイニン応答が惹起されるかどうかを調べる実験を以下のようにおこなった。シロイヌナズナWS株のカルスを、pBI35T、pBI35T.CKI2.163 、pBI35T.CKI2.162 、pEL2omega35T、pEL2omega35T.CKI2.163 又はpEL2omega35T.CKI2.162 のそれぞれを持つアグロバクテリアと共培養することにより形質転換し、以下の三種類の固形培地、すなわち、GM培地 (4.32 g/l

Murashige-Skoog salts (Sigma)，1%シュークロース、10 ml/L 5%2-(N- モルホリノ）エタンスルホン酸(KOHによりpH 5.8 に調整)，100 mg/L イノシトール、10 mg/L チアミン-HCl，1 mg/L ピリドキシン-HCl，1 mg/L ニコチン酸、及び0.3% PhytagelTM (Sigma) ）に加え、50mg/L硫酸カナマイシン、100mg/L セフォタキシム、100 mg/Lバンコマイシンと0.3 mg/Lインドール酢酸を含む固形培地Z-0 、これに0.1 mg/Lのトランスゼアチンを加えた固形培地Z-0.1 、及び1mg/L のトランスゼアチンを加えた固形培地Z-1 上で培養した。

【００６０】

pBI35Tで形質転換したカルスと、pEL2omega35Tで形質転換したカルスは、Z-0 培地では緑化やシュート（芽）の形成をせず、Z-0.1 培地では低頻度で緑化やシュート（芽）の形成を示し、そしてZ-1 では半数以上のカルスで緑化とシュート形成が認められた。それに対して、pBI35T.CKI2.163 、pBI35T.CKI2.162 、pEL2omega35T.CKI2.163 、pEL2omega35T.CKI2.162 のどれで形質転換したカルスも、Z-0 、Z-0.1 及びZ-1 のすべての培地でほとんどのカルスが緑化、シュート形成を行った。

【００６１】

これらのどのベクターで形質転換したカルスも、Z-0 及びZ-0.1 培地で最も速やかにシュートの形成を行い、これは、コントロールベクターであるpBI35TまたはpEL2omega35Tで形質転換したカルスをどのサイトカイニン濃度で培養した場合よりシュート形成が速やかな傾向にあった。

以上の結果は、CKI2遺伝子の一部または全体領域のどちらを過剰発現した場合も、サイトカイニン非存在下にサイトカイニン応答を引き起こさせることを示している。

【００６２】

【発明の効果】

以上のように、アクテイベーションタギングによって、サイトカイニンの情報伝達系に関与するヒスチジンプロテインキナーゼをコードするCKI2遺伝子をシロイヌナズナより単離した。cki2変異株ではN 末端領域を欠損したCKI2蛋白質が合成されていることが原因でサイトカイニン非存在下でも細胞分裂や不定芽の形成

などのサイトカイニン応答を示していることが示された。従って、CKI2遺伝子の発現制御によりサイトカイニン応答を制御できることが明らかであり、CKI2遺伝子の発現を制御することで、サイトカイニンが植物体において示す様々な生理作用を制御することが可能となった。

【００６３】

【配列表】

SEQUENCE LISTING

〈１１０〉 Suntory Limited

〈１１０〉 Nippon Paper Industries

〈１２０〉 Gene coding for protein participating in signal transduction of cytokinin

〈１３０〉 ９９３７７６

〈１６０〉 ２

〈２１０〉 １

〈２１１〉 ３０９６

〈２１２〉 DNA

〈２１３〉 Arabidopsis thaliana

〈２２１〉 CDS

〈２２２〉 （１８７）．．．（２９５２）

〈２２３〉 Nucleotide sequence coding for histidine protein kinase

〈４００〉 １

```
gactcttctt cagatctact cactccttct ttctctcctt cttcttcttc atttttccgg   60
tgaccggagt cggagaaggt tctttattca gatcaaggtt ctggcttaaa gaaaaaagtt  120
gtttgaattt tgagatttgt ctggtccatt gtgttgctgt tgttgtatga agagaaacct  180
tgatca atg gtc tgt gaa atg gag act gat cag att gag gaa atg gat      228
       Met Val Cys Glu Met Glu Thr Asp Gln Ile Glu Glu Met Asp
         1               5                  10

gtc gaa gtt ttg tct tcg atg tgg ccc gaa gat gtt gga act gaa gct    276
Val Glu Val Leu Ser Ser Met Trp Pro Glu Asp Val Gly Thr Glu Ala
 15                  20                  25                  30

gac aaa cag ttc aac gtc gag aaa cct gcc gga gat tta gac acg ttg    324
Asp Lys Gln Phe Asn Val Glu Lys Pro Ala Gly Asp Leu Asp Thr Leu
                 35                  40                  45
```

aaa gaa gtt act atc gag aca cgg acc att gcg gat atg aca cgg tta 372
Lys Glu Val Thr Ile Glu Thr Arg Thr Ile Ala Asp Met Thr Arg Leu
50 55 60

cca aac cta ttg aat tcg act cat caa ggc tcc tct caa cta acc aac 420
Pro Asn Leu Leu Asn Ser Thr His Gln Gly Ser Ser Gln Leu Thr Asn
65 70 75

ctt gtg aaa caa tgg gag tat atg caa gac aac gcg gtt cgg ctg tta 468
Leu Val Lys Gln Trp Glu Tyr Met Gln Asp Asn Ala Val Arg Leu Leu
80 85 90

aaa gaa gag cta aaa aat ctc gat aga cag aga gaa gaa gcc gag gct 516
Lys Glu Glu Leu Lys Asn Leu Asp Arg Gln Arg Glu Glu Ala Glu Ala
95 100 105 110

aaa gag ttg aag atc att gag gag tat aag ttt gag agc aac gag cct 564
Lys Glu Leu Lys Ile Ile Glu Glu Tyr Lys Phe Glu Ser Asn Glu Pro
115 120 125

gag aat gtt ccg gtt ttg gat gag acg agt gat ttg ttc cgc agg ttt 612
Glu Asn Val Pro Val Leu Asp Glu Thr Ser Asp Leu Phe Arg Arg Phe
130 135 140

agg cag aaa aaa cga gat gcc ttg gtc gat agc aag aag att gag atc 660
Arg Gln Lys Lys Arg Asp Ala Leu Val Asp Ser Lys Lys Ile Glu Ile
145 150 155

tat gag gag ttt gac act gtt gca tat tgg aaa cag aag gcg ttg agt 708

Tyr Glu Glu Phe Asp Thr Val Ala Tyr Trp Lys Gln Lys Ala Leu Ser
160 165 170

ctt gag aaa atg ctt gag gcg agt act gag aga gaa agg cga ttg atg 756
L u Glu Lys Met Leu Glu Ala Ser Thr Glu Arg Glu Arg Arg Leu Met
170 180 185 190

```
gag aag ctg agt gag agt ttg aaa act atg gag agt cag tca gca ccg    804
Glu Lys Leu Ser Glu Ser Leu Lys Thr Met Glu Ser Gln Ser Ala Pro
                195                 200                 205
gtc caa gag ctt act cag aat ctt aag aga gct gaa ggt ttc ttg cat    852
Val Gln Glu Leu Thr Gln Asn Leu Lys Arg Ala Glu Gly Phe Leu His
            210                 215                 220
ttc ata ctt cag aat gca cct att gtt atg ggc cat cag gat aaa gat    900
Phe Ile Leu Gln Asn Ala Pro Ile Val Met Gly His Gln Asp Lys Asp
        225                 230                 235
tta cgc tac ttg ttc atc tac aac aag tat cct agt tta cgg gaa cag    948
Leu Arg Tyr Leu Phe Ile Tyr Asn Lys Tyr Pro Ser Leu Arg Glu Gln
    240                 245                 250
gac att ttg gga aaa aca gac gtg gag ata ttc cat gga ggt gga gtt    996
Asp Ile Leu Gly Lys Thr Asp Val Glu Ile Phe His Gly Gly Gly Val
255                 260                 265                 270
aaa gaa tct gaa gat ttc aag aga gaa gtt ctt gag aaa gga aaa gct   1044
Lys Glu Ser Glu Asp Phe Lys Arg Glu Val Leu Glu Lys Gly Lys Ala
                275                 280                 285
tca aag aga gag atc aca ttt act aca gat tta ttt gga tca aag acg   1092
Ser Lys Arg Glu Ile Thr Phe Thr Thr Asp Leu Phe Gly Ser Lys Thr
            290                 295                 300
ttt ttg ata tat gtt gag cct gtt tac aac aaa gct ggc gag aaa atc   1140
Phe Leu Ile Tyr Val Glu Pro Val Tyr Asn Lys Ala Gly Glu Lys Ile
        305                 310                 315
ggt ata aac tac atg gga atg gaa gta act gat cag gta gtg aaa agg   1188
Gly Ile Asn Tyr Met Gly Met Glu Val Thr Asp Gln Val Val Lys Arg
    320                 325                 330
```

gag aaa atg gcg aaa ctt aga gaa gat aac gct gtg aga aag gcg atg 1236
Glu Lys Met Ala Lys Leu Arg Glu Asp Asn Ala Val Arg Lys Ala Met
335 340 345 350
gaa tca gaa ctg aac aag act att cac att aca gag gag aca atg aga 1284
Glu Ser Glu Leu Asn Lys Thr Ile His Ile Thr Glu Glu Thr Met Arg
355 360 365
gca aag cag atg cta gcg acg atg tct cat gag ata agg tca cca ttg 1332
Ala Lys Gln Met Leu Ala Thr Met Ser His Glu Ile Arg Ser Pro Leu
370 375 380
tca gga gta gtg gga atg gct gag ata ctt tca act aca aaa ctg gat 1380
Ser Gly Val Val Gly Met Ala Glu Ile Leu Ser Thr Thr Lys Leu Asp
385 390 395
aaa gag caa aga cag ttg ttg aat gtc atg atc tct tct ggt gat ttg 1428
Lys Glu Gln Arg Gln Leu Leu Asn Val Met Ile Ser Ser Gly Asp Leu
400 405 410
gtg ctt cag cta atc aac gac att ctt gat ctc tcc aag gtt gaa tca 1476
Val Leu Gln Leu Ile Asn Asp Ile Leu Asp Leu Ser Lys Val Glu Ser
415 420 425 430
ggt gtg atg aga tta gaa gct aca aag ttt cga cca aga gaa gta gtg 1524
Gly Val Met Arg Leu Glu Ala Thr Lys Phe Arg Pro Arg Glu Val Val
435 440 445
aag cat gtg cta cag aca gct gca gca tcg ctg aag aaa tct ttg aca 1572
Lys His Val Leu Gln Thr Ala Ala Ala Ser Leu Lys Lys Ser Leu Thr
450 455 460
tta gaa gga aac att gca gat gat gtt cct att gag gta gtt gga gat 1620
Leu Glu Gly Asn Ile Ala Asp Asp Val Pro Ile Glu Val Val Gly Asp
465 470 475

gtt cta agg att agg cag atc ctc acc aat ttg ata agc aat gct atc 1668
Val Leu Arg Ile Arg Gln Ile Leu Thr Asn Leu Ile Ser Asn Ala Ile
480 485 490
aag ttt aca cat gaa gga aat gta gga atc aaa ctc caa gtg ata tca 1716
Lys Phe Thr His Glu Gly Asn Val Gly Ile Lys Leu Gln Val Ile Ser
495 500 505 510
gaa cca tcc ttt gtg cgg gat aac gca ttg aac gca gac acc gag gaa 1764
Glu Pro Ser Phe Val Arg Asp Asn Ala Leu Asn Ala Asp Thr Glu Glu
515 520 525
cac gaa caa aac ggt ttg acc gag act tca gtt tgg att tgc tgt gac 1812
His Glu Gln Asn Gly Leu Thr Glu Thr Ser Val Trp Ile Cys Cys Asp
530 535 540
gta tgg gac act gga att gga atc cca gaa aac gct ctt cca tgt ttg 1860
Val Trp Asp Thr Gly Ile Gly Ile Pro Glu Asn Ala Leu Pro Cys Leu
545 550 555
ttc aag aag tac atg caa gca agc gct gat cat gcc cgg aaa tac ggt 1908
Phe Lys Lys Tyr Met Gln Ala Ser Ala Asp His Ala Arg Lys Tyr Gly
560 565 570
ggg act ggt ctc gga ctt gct att tgt aaa cag ctg gtt gag tta atg 1956
Gly Thr Gly Leu Gly Leu Ala Ile Cys Lys Gln Leu Val Glu Leu Met
575 580 585 590
gga ggc caa ctc act gtg aca agc cgg gtg agc gaa ggt tca acg ttc 2004

Gly Gly Gln Leu Thr Val Thr Ser Arg Val Ser Glu Gly Ser Thr Phe
595 600 605
aca ttt ata tta ccc tac aaa gtt gga aga tca gat gat tat tca gat 2052
Thr Phe Ile Leu Pro Tyr Lys Val Gly Arg Ser Asp Asp Tyr Ser Asp
610 615 620

gat caa gat gag ttc tct gat atg gcg gat caa caa tct gaa cca gac 2100
Asp Gln Asp Glu Phe Ser Asp Met Ala Asp Gln Gln Ser Glu Pro Asp
625 630 635

gat aca gct gaa gga tat ttc cag ttt aaa ccg ctc tta gga tcg ata 2148
Asp Thr Ala Glu Gly Tyr Phe Gln Phe Lys Pro Leu Leu Gly Ser Ile
640 645 650

tat tcg aat ggc gga ccg ggg atc agc aat gac ttc tta cct cat aaa 2196
Tyr Ser Asn Gly Gly Pro Gly Ile Ser Asn Asp Phe Leu Pro His Lys
655 660 665 670

gtc atg ctt act agt cct att aag ctc atc aat ggt ttt gtc gct gat 2244
Val Met Leu Thr Ser Pro Ile Lys Leu Ile Asn Gly Phe Val Ala Asp
675 680 685

ccc tct aat aac act gga cag agc gag atg cta cag ctt gaa aac ggt 2292
Pro Ser Asn Asn Thr Gly Gln Ser Glu Met Leu Gln Leu Glu Asn Gly
690 695 700

ggt tac atg gat gaa tct aaa ctc gaa acc agt tct ggt cat tgc cct 2340
Gly Tyr Met Asp Glu Ser Lys Leu Glu Thr Ser Ser Gly His Cys Pro
705 710 715

gaa tca gct cac caa tat gag aat gga aat ggt cga tgt ttc tct aag 2388
Glu Ser Ala His Gln Tyr Glu Asn Gly Asn Gly Arg Cys Phe Ser Lys
720 725 730

gaa tct gaa tct tgt agc agt tca caa gct agc tca gaa ggt gga acc 2436
Glu Ser Glu Ser Cys Ser Ser Ser Gln Ala Ser Ser Glu Gly Gly Thr
735 740 745 750

tta gaa atg gag tca gag ctc aca gtt tca tct cat agg gaa gag gaa 2484
Leu Glu Met Glu Ser Glu Leu Thr Val Ser Ser His Arg Glu Glu Glu
755 760 765

```
aaa gcc gag aca gaa gta aaa gaa aca tca aag cca aag att ttg ctt   2532
Lys Ala Glu Thr Glu Val Lys Glu Thr Ser Lys Pro Lys Ile Leu Leu
            770                 775                 780
gtg gaa gat aat aag atc aac atc atg gtt gca aag tcg atg atg aag   2580
Val Glu Asp Asn Lys Ile Asn Ile Met Val Ala Lys Ser Met Met Lys
        785                 790                 795
cag tta ggc cat acc atg gat att gct aat aat gga gtt gaa gcc ata   2628
Gln Leu Gly His Thr Met Asp Ile Ala Asn Asn Gly Val Glu Ala Ile
    800                 805                 810
acc gcg att aat agc tct agc tac gat ctg gta ctc atg gat gtg tgc   2676
Thr Ala Ile Asn Ser Ser Ser Tyr Asp Leu Val Leu Met Asp Val Cys
815                 820                 825                 830
atg ccg gtg ctc gat ggt tta aaa gct aca aga ctg atc cgt tcg tat   2724
Met Pro Val Leu Asp Gly Leu Lys Ala Thr Arg Leu Ile Arg Ser Tyr
                835                 840                 845
gaa gaa act ggg aac tgg aat gct gca ata gaa gcc gga gta gat ata   2772
Glu Glu Thr Gly Asn Trp Asn Ala Ala Ile Glu Ala Gly Val Asp Ile
            850                 855                 860
tcg aca tcg gag aat gaa caa gtt tgt atg cgt ccc aca aac cgg ctg   2820
Ser Thr Ser Glu Asn Glu Gln Val Cys Met Arg Pro Thr Asn Arg Leu
        865                 870                 875
cct ata atc gcg atg acg gca aat act tta gca gag agt tca gaa gaa   2868
Pro Ile Ile Ala Met Thr Ala Asn Thr Leu Ala Glu Ser Ser Glu Glu
    880                 885                 890
tgt tat gca aat ggt atg gac tcg ttt att tcg aaa cct gta acg ttg   2916
Cys Tyr Ala Asn Gly Met Asp Ser Phe Ile Ser Lys Pro Val Thr Leu
895                 900                 905                 910
```

caa aaa ctg aga gag tgt ttg caa cag tat ttg cac tgagatttca 2962

Gln Lys Leu Arg Glu Cys Leu Gln Gln Tyr Leu His

915 920

gatttttgtg ttttgtagat taagaaatgg ttgtgttgta tataaattgt gtaggaaaaa 3022

agttttggag agctactaag tagcttcctc tttttagaga tgtatagttc aataaaaaaa 3082

aaaaaaaaaa aaaa 3096

【００６４】

〈２１０〉 2

〈２１１〉 ９２２

〈２１２〉 PRT

〈２１３〉 Arabidopsis thaliana

〈２２３〉 Amino acid sequence of histidine protein kinase

〈４００〉 2

Met Val Cys Glu Met Glu Thr Asp Gln Ile Glu Glu Met Asp Val Glu

1 5 10 15

Val Leu Ser Ser Met Trp Pro Glu Asp Val Gly Thr Glu Ala Asp Lys

20 25 30

Gln Phe Asn Val Glu Lys Pro Ala Gly Asp Leu Asp Thr Leu Lys Glu

35 40 45

Val Thr Ile Glu Thr Arg Thr Ile Ala Asp Met Thr Arg Leu Pro Asn

50 55 60

Leu Leu Asn Ser Thr His Gln Gly Ser Ser Gln Leu Thr Asn Leu Val

65 70 75 80

Lys Gln Trp Glu Tyr Met Gln Asp Asn Ala Val Arg Leu Leu Lys Glu

85 90 95

Glu Leu Lys Asn Leu Asp Arg Gln Arg Glu Glu Ala Glu Ala Lys Glu

100 105 110

Leu Lys Ile Ile Glu Glu Tyr Lys Ph Glu Ser Asn Glu Pro Glu Asn

115 120 125

Val Pro Val Leu Asp Glu Thr Ser Asp Leu Phe Arg Arg Phe Arg Gln
130 135 140
Lys Lys Arg Asp Ala Leu Val Asp Ser Lys Lys Ile Glu Ile Tyr Glu
145 150 155 160
Glu Phe Asp Thr Val Ala Tyr Trp Lys Gln Lys Ala Leu Ser Leu Glu
165 170 170
Lys Met Leu Glu Ala Ser Thr Glu Arg Glu Arg Arg Leu Met Glu Lys
180 185 190
Leu Ser Glu Ser Leu Lys Thr Met Glu Ser Gln Ser Ala Pro Val Gln
195 200 205
Glu Leu Thr Gln Asn Leu Lys Arg Ala Glu Gly Phe Leu His Phe Ile
210 215 220
Leu Gln Asn Ala Pro Ile Val Met Gly His Gln Asp Lys Asp Leu Arg
225 230 235 240
Tyr Leu Phe Ile Tyr Asn Lys Tyr Pro Ser Leu Arg Glu Gln Asp Ile
245 250 255
Leu Gly Lys Thr Asp Val Glu Ile Phe His Gly Gly Gly Val Lys Glu
260 265 270
Ser Glu Asp Phe Lys Arg Glu Val Leu Glu Lys Gly Lys Ala Ser Lys
275 280 285
Arg Glu Ile Thr Phe Thr Thr Asp Leu Phe Gly Ser Lys Thr Phe Leu
290 295 300
Ile Tyr Val Glu Pro Val Tyr Asn Lys Ala Gly Glu Lys Ile Gly Ile
305 310 315 320
Asn Tyr Met Gly Met Glu Val Thr Asp Gln Val Val Lys Arg Glu Lys
325 330 335
Met Ala Lys Leu Arg Glu Asp Asn Ala Val Arg Lys Ala Met Glu Ser
340 345 350

Glu Leu Asn Lys Thr Ile His Ile Thr Glu Glu Thr Met Arg Ala Lys
355 360 365
Gln Met Leu Ala Thr Met Ser His Glu Ile Arg Ser Pro Leu Ser Gly
370 375 380
Val Val Gly Met Ala Glu Ile Leu Ser Thr Thr Lys Leu Asp Lys Glu
385 390 395 400
Gln Arg Gln Leu Leu Asn Val Met Ile Ser Ser Gly Asp Leu Val Leu
405 410 415
Gln Leu Ile Asn Asp Ile Leu Asp Leu Ser Lys Val Glu Ser Gly Val
420 425 430
Met Arg Leu Glu Ala Thr Lys Phe Arg Pro Arg Glu Val Val Lys His
435 440 445
Val Leu Gln Thr Ala Ala Ala Ser Leu Lys Lys Ser Leu Thr Leu Glu
450 455 460
Gly Asn Ile Ala Asp Asp Val Pro Ile Glu Val Val Gly Asp Val Leu
465 470 475 480
Arg Ile Arg Gln Ile Leu Thr Asn Leu Ile Ser Asn Ala Ile Lys Phe
485 490 495
Thr His Glu Gly Asn Val Gly Ile Lys Leu Gln Val Ile Ser Glu Pro
500 505 510
Ser Phe Val Arg Asp Asn Ala Leu Asn Ala Asp Thr Glu Glu His Glu
515 520 525

Gln Asn Gly Leu Thr Glu Thr Ser Val Trp Ile Cys Cys Asp Val Trp
530 535 540
Asp Thr Gly Ile Gly Ile Pro Glu Asn Ala Leu Pro Cys Leu Phe Lys
545 550 555 560
Lys Tyr Met Gln Ala Ser Ala Asp His Ala Arg Lys Tyr Gly Gly Thr
565 570 575

Gly Leu Gly Leu Ala Ile Cys Lys Gln Leu Val Glu Leu Met Gly Gly
580 585 590
Gln Leu Thr Val Thr Ser Arg Val Ser Glu Gly Ser Thr Phe Thr Phe
595 600 605
Ile Leu Pro Tyr Lys Val Gly Arg Ser Asp Asp Tyr Ser Asp Asp Gln
610 615 620
Asp Glu Phe Ser Asp Met Ala Asp Gln Gln Ser Glu Pro Asp Asp Thr
625 630 635 640
Ala Glu Gly Tyr Phe Gln Phe Lys Pro Leu Leu Gly Ser Ile Tyr Ser
645 650 655
Asn Gly Gly Pro Gly Ile Ser Asn Asp Phe Leu Pro His Lys Val Met
660 665 670
Leu Thr Ser Pro Ile Lys Leu Ile Asn Gly Phe Val Ala Asp Pro Ser
675 680 685
Asn Asn Thr Gly Gln Ser Glu Met Leu Gln Leu Glu Asn Gly Gly Tyr
690 695 700
Met Asp Glu Ser Lys Leu Glu Thr Ser Ser Gly His Cys Pro Glu Ser
705 710 715 720
Ala His Gln Tyr Glu Asn Gly Asn Gly Arg Cys Phe Ser Lys Glu Ser
725 730 735
Glu Ser Cys Ser Ser Ser Gln Ala Ser Ser Glu Gly Gly Thr Leu Glu
740 745 750

Met Glu Ser Glu Leu Thr Val Ser Ser His Arg Glu Glu Glu Lys Ala
755 760 765
Glu Thr Glu Val Lys Glu Thr Ser Lys Pro Lys Ile Leu Leu Val Glu
770 775 780
Asp Asn Lys Ile Asn Ile Met Val Ala Lys Ser Met Met Lys Gln Leu
785 790 795 800

Gly His Thr Met Asp Ile Ala Asn Asn Gly Val Glu Ala Ile Thr Ala
805 810 815
Ile Asn Ser Ser Ser Tyr Asp Leu Val Leu Met Asp Val Cys Met Pro
820 825 830
Val Leu Asp Gly Leu Lys Ala Thr Arg Leu Ile Arg Ser Tyr Glu Glu
835 840 845
Thr Gly Asn Trp Asn Ala Ala Ile Glu Ala Gly Val Asp Ile Ser Thr
850 855 860
Ser Glu Asn Glu Gln Val Cys Met Arg Pro Thr Asn Arg Leu Pro Ile
865 870 875 880
Ile Ala Met Thr Ala Asn Thr Leu Ala Glu Ser Ser Glu Glu Cys Tyr
885 890 895
Ala Asn Gly Met Asp Ser Phe Ile Ser Lys Pro Val Thr Leu Gln Lys
900 905 910
Leu Arg Glu Cys Leu Gln Gln Tyr Leu His
915 920

【００６５】

〈２１０〉３

〈２１１〉４６７９

〈２１２〉DNA

〈２１３〉Arabidopsis thaliana

〈２２０〉

〈２２１〉exon 1

〈２２２〉（２３０）…（３０７）

〈２２１〉exon 2

〈２２２〉（８６５）…（１６７７）

〈２２１〉exon 3

〈２２２〉（１７５５）…（１８１１）

〈２２１〉ex n 4

<２２２> (１９０４) … (２１３１)

<２２１> exon 5

<２２２> (２２１４) … (２３０７)

<２２１> exon 6

<２２２> (２３８９) … (２５９５)

<２２１> exon 7

<２２２> (２６９７) … (２８２７)

<２２１> exon 8

<２２２> (２９０５) … (２９５４)

<２２１> exon 9

<２２２> (３０２８) … (３２０９)

<２２１> exon 10

<２２２> (３３０６) … (３４０９)

<２２１> exon 11

<２２２> (３４９２) … (４２１４)

<２２１> exon 12

<２２２> (４３０３) … (４４６７)

<２２１> exon 13

<２２２> (４５５７) … (４６７９)

<２２３> Nucleotide sequence of genomic DNA coding for histidine protei
n kinase

<４００> ３

gagaaagaga gagaagagaa gagaagagaa gagatgaata taatatacat tgacctctct 60

gtctcatgag caagcacatg tcctctctct ctctctctct ctttctcttc tccgtaaaaa 120

aaattaccaa tctttcacaa ttcattcaca tgctcctctc tctttcttca ttggctattc 180

tcttcccaat gctcatttga agtttattta ctctactccc gacgaccacg actcttcttc 240

agatctactc actccttctt tctctccttc ttcttcttca tttttccggt gaccggagtc 300

ggagaaggta aagcttctga tcccttcccc tttcctccgg catactcgtt cctctgcttt 360

gtctttcgtt tttttcattt ctttctgttt cagccttttg catctcgaga cttcatgatt 420

acaatttctt tatgtttctc aatgcaagat tttcgtttat aatatatgat cactgatgtc 480

aagaataaat caccaaagat ttttttcttt ccatatattt tttccgatca tcgctcaaaa 540

aaaagtttca tcgtttaaat ttattttcag attttatcgt ttattggtga attttatgat 600

cctagttgat aattcaatct gaaaaaagaa actgatacag ttttcttttt gaagctctgc 660

aaatttctga tttttaagct cgaatcatat aatttgaagt ttcccgctaa tgttcaatca 720

gaattggtcc acacacttag ttgttgtgga ccctttgcaa aattctattt tagttcatta 780

tttttcacat tttacagatc aagattctct gatggagatg gtttgtcctg actctaacct 840

ctgtgtttga aaatatctat acaggttctt tattcagatc aaggttctgg cttaaagaaa 900

aaagttgttt gaattttgag atttgtctgg tccattgtgt tgctgttgtt gtatgaagag 960

aaaccttgat ca 972

atg gtc tgt gaa atg gag act gat cag att gag gaa atg gat gtc gaa 1020

Met Val Cys Glu Met Glu Thr Asp Gln Ile Glu Glu Met Asp Val Glu

1 5 10 15

gtt ttg tct tcg atg tgg ccc gaa gat gtt gga act gaa gct gac aaa 1068

Val Leu Ser Ser Met Trp Pro Glu Asp Val Gly Thr Glu Ala Asp Lys

20 25 30

cag ttc aac gtc gag aaa cct gcc gga gat tta gac acg ttg aaa gaa 1116

Gln Phe Asn Val Glu Lys Pro Ala Gly Asp Leu Asp Thr Leu Lys Glu

35 40 45

gtt act atc gag aca cgg acc att gcg gat atg aca cgg tta cca aac 1164

Val Thr Ile Glu Thr Arg Thr Ile Ala Asp Met Thr Arg Leu Pro Asn

50 55 60

cta ttg aat tcg act cat caa ggc tcc tct caa cta acc aac ctt gtg 1212

Leu Leu Asn Ser Thr His Gln Gly Ser Ser Gln Leu Thr Asn Leu Val

65 70 75 80

aaa caa tgg gag tat atg caa gac aac gcg gtt cgg ctg tta aaa gaa 1260

Lys Gln Trp Glu Tyr Met Gln Asp Asn Ala Val Arg Leu Leu Lys Glu

85 90 95

gag cta aaa aat ctc gat aga cag aga gaa gaa gcc gag gct aaa gag 1308
Glu Leu Lys Asn Leu Asp Arg Gln Arg Glu Glu Ala Glu Ala Lys Glu
100 105 110

ttg aag atc att gag gag tat aag ttt gag agc aac gag cct gag aat 1356
Leu Lys Ile Ile Glu Glu Tyr Lys Phe Glu Ser Asn Glu Pro Glu Asn
115 120 125

gtt ccg gtt ttg gat gag acg agt gat ttg ttc cgc agg ttt agg cag 1404
Val Pro Val Leu Asp Glu Thr Ser Asp Leu Phe Arg Arg Phe Arg Gln
130 135 140

aaa aaa cga gat gcc ttg gtc gat agc aag aag att gag atc tat gag 1452
Lys Lys Arg Asp Ala Leu Val Asp Ser Lys Lys Ile Glu Ile Tyr Glu
145 150 155 160

gag ttt gac act gtt gca tat tgg aaa cag aag gcg ttg agt ctt gag 1500
Glu Phe Asp Thr Val Ala Tyr Trp Lys Gln Lys Ala Leu Ser Leu Glu
165 170 175

aaa atg ctt gag gcg agt act gag aga gaa agg cga ttg atg gag aag 1548
Lys Met Leu Glu Ala Ser Thr Glu Arg Glu Arg Arg Leu Met Glu Lys
180 185 190

ctg agt gag agt ttg aaa act atg gag agt cag tca gca ccg gtc caa 1596
Leu Ser Glu Ser Leu Lys Thr Met Glu Ser Gln Ser Ala Pro Val Gln
195 200 205

gag ctt act cag aat ctt aag aga gct gaa ggt ttc ttg cat ttc ata 1644

Glu Leu Thr Gln Asn Leu Lys Arg Ala Glu Gly Phe Leu His Phe Ile
210 215 220

ctt cag aat gca cct att gtt atg ggc cat cag gtaaagtaaa aggtgattct 1697
Leu Gln Asn Ala Pro Ile Val Met Gly His Gln
225 230 235

tgatcttgtt ttcgatcttt tcgacttttc tgattctttg ttacttatga gtttcag 1754

```
gat aaa gat tta cgc tac ttg ttc atc tac aac aag tat cct agt tta   1802
Asp Lys Asp Leu Arg Tyr Leu Phe Ile Tyr Asn Lys Tyr Pro Ser Leu
                240                 245                 250

cgg gaa cag gttagaagaa actttttct tctgttggat ttattgaatc           1851
Arg Glu Gln

attctctgag gaaatgtgtt taaatcaaaa tctgtttctt actatatttc ag gac     1906
                                                          Asp
                                                          255

att ttg gga aaa aca gac gtg gag ata ttc cat gga ggt gga gtt aaa   1954
Ile Leu Gly Lys Thr Asp Val Glu Ile Phe His Gly Gly Gly Val Lys
            260                 265                 270

gaa tct gaa gat ttc aag aga gaa gtt ctt gag aaa gga aaa gct tca   2002
Glu Ser Glu Asp Phe Lys Arg Glu Val Leu Glu Lys Gly Lys Ala Ser
        275                 280                 285

aag aga gag atc aca ttt act aca gat tta ttt gga tca aag acg ttt   2050
Lys Arg Glu Ile Thr Phe Thr Thr Asp Leu Phe Gly Ser Lys Thr Phe
    290                 295                 300

ttg ata tat gtt gag cct gtt tac aac aaa gct ggc gag aaa atc ggt   2098
Leu Ile Tyr Val Glu Pro Val Tyr Asn Lys Ala Gly Glu Lys Ile Gly
305                 310                 315

ata aac tac atg gga atg gaa gta act gat cag gttagttagc taaagatttt 2151
Ile Asn Tyr Met Gly Met Glu Val Thr Asp Gln
320                 325                 330

tgaactattc tataatctat gttctcattt tcacatcttc actggatctt cctgtgttac 2211
ag gta gtg aaa agg gag aaa atg gcg aaa ctt aga gaa gat aac gct     2258
  Val Val Lys Arg Glu Lys Met Ala Lys Leu Arg Glu Asp Asn Ala
                335                 340                 345
```

gtg aga aag gcg atg gaa tca gaa ctg aac aag act att cac att aca 2306
Val Arg Lys Ala Met Glu Ser Glu Leu Asn Lys Thr Ile His Ile Thr
350 355 360

g gtttgttcaa gttaagcagt gaaagtttta gaaagattaa tgagaaaact 2357

agacttaggt gttgtgtttt ttcttttgca g ag gag aca atg aga gca aag cag 2411
Glu Glu Thr Met Arg Ala Lys Gln
365

atg cta gcg acg atg tct cat gag ata agg tca cca ttg tca gga gta 2459
Met Leu Ala Thr Met Ser His Glu Ile Arg Ser Pro Leu Ser Gly Val
370 375 380 385

gtg gga atg gct gag ata ctt tca act aca aaa ctg gat aaa gag caa 2507
Val Gly Met Ala Glu Ile Leu Ser Thr Thr Lys Leu Asp Lys Glu Gln
390 395 400

aga cag ttg ttg aat gtc atg atc tct tct ggt gat ttg gtg ctt cag 2555
Arg Gln Leu Leu Asn Val Met Ile Ser Ser Gly Asp Leu Val Leu Gln
405 410 415

cta atc aac gac att ctt gat ctc tcc aag gtt gaa tca g gtacaatata 2605
Leu Ile Asn Asp Ile Leu Asp Leu Ser Lys Val Glu Ser
420 425 430

ctgttttcaa agtttttgat cttgtggtgt ggtcattgtt caaatcctcg attacatatg 2665

ttatttttg gtatttgtgt gttcttttta g gt gtg atg aga tta gaa gct aca 2719
Gly Val Met Arg Leu Glu Ala Thr
435

aag ttt cga cca aga gaa gta gtg aag cat gtg cta cag aca gct gca 2767
Lys Phe Arg Pro Arg Glu Val Val Lys His Val Leu Gln Thr Ala Ala
440 445 450

gca tcg ctg aag aaa tct ttg aca tta gaa gga aac att gca gat gat 2815
Ala Ser Leu Lys Lys Ser Leu Thr Leu Glu Gly Asn Ile Ala Asp Asp
455 460 465 470

gtt cct att gag gttactacac atttcagaaa gagttaaatg tggcaaaagt 2867
Val Pro Ile Glu

ctttgtgatc ttaacttttt ttcctttaaa tgtttag gta gtt gga gat gtt cta 2922
Val Val Gly Asp Val Leu
475 480

agg att agg cag atc ctc acc aat ttg ata ag gttctttacc tgattcctgt 2974
Arg Ile Arg Gln Ile Leu Thr Asn Leu Ile Ser
485 490

attatttgca taatgacaag tttcggttcc tgatttgttc aaacgttttg cag c aat 3031
Asn

gct atc aag ttt aca cat gaa gga aat gta gga atc aaa ctc caa gtg 3079
Ala Ile Lys Phe Thr His Glu Gly Asn Val Gly Ile Lys Leu Gln Val
495 500 505

ata tca gaa cca tcc ttt gtg cgg gat aac gca ttg aac gca gac acc 3127
Ile Ser Glu Pro Ser Phe Val Arg Asp Asn Ala Leu Asn Ala Asp Thr
510 515 520

gag gaa cac gaa caa aac ggt ttg acc gag act tca gtt tgg att tgc 3175
Glu Glu His Glu Gln Asn Gly Leu Thr Glu Thr Ser Val Trp Ile Cys
525 530 535 540

tgt gac gta tgg gac act gga att gga atc cca g gcaagcaagc 3219
Cys Asp Val Trp Asp Thr Gly Ile Gly Ile Pro
545 550

aattctgaca aatgaacatg aaaagactaa aaaactccaa ctaacctata tattaacctg 3279

gttcatgttt tggtgttctt gtgcag aa aac gct ctt cca tgt ttg ttc aag 3331
Glu Asn Ala Leu Pro Cys Leu Phe Lys
555 560

aag tac atg caa gca agc gct gat cat gcc cgg aaa tac ggt ggg act 3379
Lys Tyr Met Gln Ala Ser Ala Asp His Ala Arg Lys Tyr Gly Gly Thr
565 570 575

ggt ctc gga ctt gct att tgt aaa cag ctg gtaagctatt attaggattt ta 3431
Gly Leu Gly Leu Ala Ile Cys Lys Gln Leu
580 585

caacacta cagaagaaac taatgaagct cgttatccta atctttcttt gtttgtttac 3489
ag gtt gag tta atg gga ggc caa ctc act gtg aca agc cgg gtg agc 3536
Val Glu Leu Met Gly Gly Gln Leu Thr Val Thr Ser Arg Val Ser
590 595 600

gaa ggt tca acg ttc aca ttt ata tta ccc tac aaa gtt gga aga tca 3586
Glu Gly Ser Thr Phe Thr Phe Ile Leu Pro Tyr Lys Val Gly Arg Ser
605 610 615

gat gat tat tca gat gat caa gat gag ttc tct gat atg gcg gat caa 3632
Asp Asp Tyr Ser Asp Asp Gln Asp Glu Phe Ser Asp Met Ala Asp Gln
620 625 630

caa tct gaa cca gac gat aca gct gaa gga tat ttc cag ttt aaa ccg 3680
Gln Ser Glu Pro Asp Asp Thr Ala Glu Gly Tyr Phe Gln Phe Lys Pro
635 640 645

ctc tta gga tcg ata tat tcg aat ggc gga ccg ggg atc agc aat gac 3728
Leu Leu Gly Ser Ile Tyr Ser Asn Gly Gly Pro Gly Ile Ser Asn Asp
650 655 660 665

ttc tta cct cat aaa gtc atg ctt act agt cct att aag ctc atc aat 3776
Phe Leu Pro His Lys Val Met Leu Thr Ser Pro Ile Lys Leu Ile Asn
670 675 680

ggt ttt gtc gct gat ccc tct aat aac act gga cag agc gag atg cta 3824
Gly Phe Val Ala Asp Pro Ser Asn Asn Thr Gly Gln Ser Glu Met Leu
685 690 695

cag ctt gaa aac ggt ggt tac atg gat gaa tct aaa ctc gaa acc agt 3872
Gln Leu Glu Asn Gly Gly Tyr Met Asp Glu Ser Lys Leu Glu Thr Ser
700 705 710

```
tct ggt cat tgc cct gaa tca gct cac caa tat gag aat gga aat ggt   3920
S r Gly His Cys Pr  Glu Ser Ala His Gln Tyr Glu Asn Gly Asn Gly
    715                 720                 725
cga tgt ttc tct aag gaa tct gaa tct tgt agc agt tca caa gct agc   3968
Arg Cys Phe Ser Lys Glu Ser Glu Ser Cys Ser Ser Ser Gln Ala Ser
730                 735                 740                 745
tca gaa ggt gga acc tta gaa atg gag tca gag ctc aca gtt tca tct   4016
S r Glu Gly Gly Thr Leu Glu Met Glu Ser Glu Leu Thr Val Ser Ser
                750                 755                 760
cat agg gaa gag gaa aaa gcc gag aca gaa gta aaa gaa aca tca aag   4064
His Arg Glu Glu Glu Lys Ala Glu Thr Glu Val Lys Glu Thr Ser Lys
            765                 770                 775
cca aag att ttg ctt gtg gaa gat aat aag atc aac atc atg gtt gca   4112
Pro Lys Ile Leu Leu Val Glu Asp Asn Lys Ile Asn Ile Met Val Ala
        780                 785                 790
aag tcg atg atg aag cag tta ggc cat acc atg gat att gct aat aat   4160
Lys Ser Met Met Lys Gln Leu Gly His Thr Met Asp Ile Ala Asn Asn
    795                 800                 805
gga gtt gaa gcc ata acc gcg att aat agc tct agc tac gat ctg gta   4208
Gly Val Glu Ala Ile Thr Ala Ile Asn Ser Ser Ser Tyr Asp Leu Val
810                 815                 820                 825
ctc atg gtatgtaaat tttcttagct ctaaggactt gtcctttca aattcactta     4264
L u Met
tatttgaaaa aggcttataa ttcatattgg gttcacag gat gtg tgc atg ccg gtg 4320
                                        Asp Val Cys Met Pro Val
                                                830
ctc gat ggt tta aaa gct aca aga ctg atc cgt tcg tat gaa gaa act   4368
L u Asp Gly Leu Lys Ala Thr Arg Leu Ile Arg Ser Tyr Glu Glu Thr
    835                 840                 845
```

ggg aac tgg aat gct gca ata gaa gcc gga gta gat ata tcg aca tcg 4416
Gly Asn Trp Asn Ala Ala Ile Glu Ala Gly Val Asp Ile Ser Thr Ser
850 855 860 865
gag aat gaa caa gtt tgt atg cgt ccc aca aac cgg ctg cct ata atc 4464
Glu Asn Glu Gln Val Cys Met Arg Pro Thr Asn Arg Leu Pro Ile Ile
870 875 880
gcg gtcagtactt ctttttgaa tactaaacac agagatctaa tgcataactt 4517
Ala
gagaaaactg atagtcagaa tgcgttgtgg aatgtgcag atg acg gca aat act 4571
Met Thr Ala Asn Thr
885
tta gca gag agt tca gaa gaa tgt tat gca aat ggt atg gac tcg ttt 4619
Leu Ala Glu Ser Ser Glu Glu Cys Tyr Ala Asn Gly Met Asp Ser Phe
890 895 900
att tcg aaa cct gta acg ttg caa aaa ctg aga gag tgt ttg caa cag 4667
Ile Ser Lys Pro Val Thr Leu Gln Lys Leu Arg Glu Cys Leu Gln Gln
905 910 915
tat ttg cac tga 4679
Tyr Leu His ***
920

【００６６】

<210> 4

<211> 922

<212> PRT

<213> Arabidopsis thariana

<223> Amino acid sequence of histidine protein kinese

<400> 4

Met Val Cys Glu Met Glu Thr Asp Gln Ile Glu Glu Met Asp Val Glu
1 5 10 15

Val Leu Ser Ser Met Trp Pro Glu Asp Val Gly Thr Glu Ala Asp Lys
20 25 30
Gln Phe Asn Val Glu Lys Pro Ala Gly Asp Leu Asp Thr Leu Lys Glu
35 40 45
Val Thr Ile Glu Thr Arg Thr Ile Ala Asp Met Thr Arg Leu Pro Asn
50 55 60
Leu Leu Asn Ser Thr His Gln Gly Ser Ser Gln Leu Thr Asn Leu Val
65 70 75 80
Lys Gln Trp Glu Tyr Met Gln Asp Asn Ala Val Arg Leu Leu Lys Glu
85 90 95
Glu Leu Lys Asn Leu Asp Arg Gln Arg Glu Glu Ala Glu Ala Lys Glu
100 105 110
Leu Lys Ile Ile Glu Glu Tyr Lys Phe Glu Ser Asn Glu Pro Glu Asn
115 120 125
Val Pro Val Leu Asp Glu Thr Ser Asp Leu Phe Arg Arg Phe Arg Gln
130 135 140
Lys Lys Arg Asp Ala Leu Val Asp Ser Lys Lys Ile Glu Ile Tyr Glu
145 150 155 160
Glu Phe Asp Thr Val Ala Tyr Trp Lys Gln Lys Ala Leu Ser Leu Glu
165 170 175
Lys Met Leu Glu Ala Ser Thr Glu Arg Glu Arg Arg Leu Met Glu Lys
180 185 190
Leu Ser Glu Ser Leu Lys Thr Met Glu Ser Gln Ser Ala Pro Val Gln
195 200 205
Glu Leu Thr Gln Asn Leu Lys Arg Ala Glu Gly Phe Leu His Phe Ile
210 215 220
Leu Gln Asn Ala Pr Ile Val Met Gly His Gln Asp Lys Asp Leu Arg
225 230 235 240

Tyr Leu Phe Ile Tyr Asn Lys Tyr Pro Ser Leu Arg Glu Gln Asp Ile
245 250 255
Leu Gly Lys Thr Asp Val Glu Ile Phe His Gly Gly Gly Val Lys Glu
260 265 270
Ser Glu Asp Phe Lys Arg Glu Val Leu Glu Lys Gly Lys Ala Ser Lys
275 280 285
Arg Glu Ile Thr Phe Thr Thr Asp Leu Phe Gly Ser Lys Thr Phe Leu
290 295 300
Ile Tyr Val Glu Pro Val Tyr Asn Lys Ala Gly Glu Lys Ile Gly Ile
305 310 315 320
Asn Tyr Met Gly Met Glu Val Thr Asp Gln Val Val Lys Arg Glu Lys
325 330 335
Met Ala Lys Leu Arg Glu Asp Asn Ala Val Arg Lys Ala Met Glu Ser
340 345 350
Glu Leu Asn Lys Thr Ile His Ile Thr Glu Glu Thr Met Arg Ala Lys
355 360 365
Gln Met Leu Ala Thr Met Ser His Glu Ile Arg Ser Pro Leu Ser Gly
370 375 380
Val Val Gly Met Ala Glu Ile Leu Ser Thr Thr Lys Leu Asp Lys Glu
385 390 395 400
Gln Arg Gln Leu Leu Asn Val Met Ile Ser Ser Gly Asp Leu Val Leu
405 410 415

Gln Leu Ile Asn Asp Ile Leu Asp Leu Ser Lys Val Glu Ser Gly Val
420 425 430
Met Arg Leu Glu Ala Thr Lys Phe Arg Pro Arg Glu Val Val Lys His
435 440 445
Val Leu Gln Thr Ala Ala Ala Ser Leu Lys Lys Ser Leu Thr Leu Glu
450 455 460

Gly Asn Ile Ala Asp Asp Val Pro Ile Glu Val Val Gly Asp Val Leu
465 470 475 480
Arg Ile Arg Gln Ile Leu Thr Asn Leu Ile Ser Asn Ala Ile Lys Phe
485 490 495
Thr His Glu Gly Asn Val Gly Ile Lys Leu Gln Val Ile Ser Glu Pro
500 505 510
Ser Phe Val Arg Asp Asn Ala Leu Asn Ala Asp Thr Glu Glu His Glu
515 520 525
Gln Asn Gly Leu Thr Glu Thr Ser Val Trp Ile Cys Cys Asp Val Trp
530 535 540
Asp Thr Gly Ile Gly Ile Pro Glu Asn Ala Leu Pro Cys Leu Phe Lys
545 550 555 560
Lys Tyr Met Gln Ala Ser Ala Asp His Ala Arg Lys Tyr Gly Gly Thr
565 570 575
Gly Leu Gly Leu Ala Ile Cys Lys Gln Leu Val Glu Leu Met Gly Gly
580 585 590
Gln Leu Thr Val Thr Ser Arg Val Ser Glu Gly Ser Thr Phe Thr Phe
595 600 605
Ile Leu Pro Tyr Lys Val Gly Arg Ser Asp Asp Tyr Ser Asp Asp Gln
610 615 620
Asp Glu Phe Ser Asp Met Ala Asp Gln Gln Ser Glu Pro Asp Asp Thr
625 630 635 640
Ala Glu Gly Tyr Phe Gln Phe Lys Pro Leu Leu Gly Ser Ile Tyr Ser
645 650 655
Asn Gly Gly Pro Gly Ile Ser Asn Asp Phe Leu Pro His Lys Val Met
660 665 670
Leu Thr Ser Pro Ile Lys Leu Ile Asn Gly Phe Val Ala Asp Pro Ser
675 680 685

Asn Asn Thr Gly Gln Ser Glu Met Leu Gln Leu Glu Asn Gly Gly Tyr
690 695 700
Met Asp Glu Ser Lys Leu Glu Thr Ser Ser Gly His Cys Pro Glu Ser
705 710 715 720
Ala His Gln Tyr Glu Asn Gly Asn Gly Arg Cys Phe Ser Lys Glu Ser
725 730 735
Glu Ser Cys Ser Ser Ser Gln Ala Ser Ser Glu Gly Gly Thr Leu Glu
740 745 750
Met Glu Ser Glu Leu Thr Val Ser Ser His Arg Glu Glu Glu Lys Ala
755 760 765
Glu Thr Glu Val Lys Glu Thr Ser Lys Pro Lys Ile Leu Leu Val Glu
770 775 780
Asp Asn Lys Ile Asn Ile Met Val Ala Lys Ser Met Met Lys Gln Leu
785 790 795 800
Gly His Thr Met Asp Ile Ala Asn Asn Gly Val Glu Ala Ile Thr Ala
805 810 815
Ile Asn Ser Ser Ser Tyr Asp Leu Val Leu Met Asp Val Cys Met Pro
820 825 830
Val Leu Asp Gly Leu Lys Ala Thr Arg Leu Ile Arg Ser Tyr Glu Glu
835 840 845
Thr Gly Asn Trp Asn Ala Ala Ile Glu Ala Gly Val Asp Ile Ser Thr
850 855 860

Ser Glu Asn Glu Gln Val Cys Met Arg Pro Thr Asn Arg Leu Pro Ile
865 870 875 880
Ile Ala Met Thr Ala Asn Thr Leu Ala Glu Ser Ser Glu Glu Cys Tyr
885 890 895
Ala Asn Gly Met Asp Ser Phe Ile Ser Lys Pro Val Thr Leu Gln Lys
900 905 910

Leu Arg Glu Cys Leu Gln Gln Tyr Leu His

915 920

【００６７】

〈２１０〉５

〈２１１〉３７０８

〈２１２〉DNA

〈２１３〉Arabidopsis thaliana

〈２２０〉

〈２２１〉exon 1

〈２２２〉（１）…（７０５）

〈２２１〉exon 2

〈２２２〉（７８３）…（８３９）

〈２２１〉exon 3

〈２２２〉（９３３）…（１１６０）

〈２２１〉exon 4

〈２２２〉（１２４３）…（１３３６）

〈２２１〉exon 5

〈２２２〉（１４１８）…（１６２４）

〈２２１〉exon 6

〈２２２〉（１７２６）…（１８５６）

〈２２１〉exon 7

〈２２２〉（１９３４）…（１９８３）

〈２２１〉exon 8

〈２２２〉（２０５７）…（２２３８）

〈２２１〉exon 9

〈２２２〉（２３３５）…（２４３８）

〈２２１〉exon 10

〈２２２〉（２５２１）…（３２４３）

〈２２１〉exon 11

〈２２２〉（３３３２）…（３４９６）

〈２２１〉 xon 12

〈２２２〉（３５８６）…（３７０８）

〈２２３〉Nucleotide sequence of genomic DNA coding for histidine protei
n kinase

〈４００〉５

atg gtc tgt gaa atg gag act gat cag att gag gaa atg gat gtc gaa 48
Met Val Cys Glu Met Glu Thr Asp Gln Ile Glu Glu Met Asp Val Glu
1 5 10 15

gtt ttg tct tcg atg tgg ccc gaa gat gtt gga act gaa gct gac aaa 96
Val Leu Ser Ser Met Trp Pro Glu Asp Val Gly Thr Glu Ala Asp Lys
20 25 30

cag ttc aac gtc gag aaa cct gcc gga gat tta gac acg ttg aaa gaa 144
Gln Phe Asn Val Glu Lys Pro Ala Gly Asp Leu Asp Thr Leu Lys Glu
35 40 45

gtt act atc gag aca cgg acc att gcg gat atg aca cgg tta cca aac 192
Val Thr Ile Glu Thr Arg Thr Ile Ala Asp Met Thr Arg Leu Pro Asn
50 55 60

cta ttg aat tcg act cat caa ggc tcc tct caa cta acc aac ctt gtg 240
Leu Leu Asn Ser Thr His Gln Gly Ser Ser Gln Leu Thr Asn Leu Val
65 70 75 80

aaa caa tgg gag tat atg caa gac aac gcg gtt cgg ctg tta aaa gaa 288
Lys Gln Trp Glu Tyr Met Gln Asp Asn Ala Val Arg Leu Leu Lys Glu
85 90 95

gag cta aag aat ctc gat aga cag aga gaa gaa gct gag gct aaa gag 336
Glu Leu Lys Asn Leu Asp Arg Gln Arg Glu Glu Ala Glu Ala Lys Glu
100 105 110

ttg aag atc att gag gag tat aag ttt gag agc aac gag cct gag aat 384
Leu Lys Ile Ile Glu Glu Tyr Lys Phe Glu Ser Asn Glu Pro Glu Asn
115 120 125

gtt ccg gtt ttg gat gag acg agt gat ttg ttc cgc agg ttt agg cag 432
Val Pro Val Leu Asp Glu Thr Ser Asp Leu Phe Arg Arg Phe Arg Gln
130 135 140

aaa aaa cga gat gcc ttg gtc gat agc aag aag att gag atc tat gag 480
Lys Lys Arg Asp Ala Leu Val Asp Ser Lys Lys Ile Glu Ile Tyr Glu
145 150 155 160

gag ttt gac act gtt gca tat tgg aaa cag aag gcg ttg agt ctt gag 528
Glu Phe Asp Thr Val Ala Tyr Trp Lys Gln Lys Ala Leu Ser Leu Glu
165 170 175

aaa atg ctt gag gcg agt act gag aga gaa agg cga ttg atg gag aag 576
Lys Met Leu Glu Ala Ser Thr Glu Arg Glu Arg Arg Leu Met Glu Lys
180 185 190

ctg agt gag agt ttg aaa act atg gag agt cag tca gca ccg gtc caa 624
Leu Ser Glu Ser Leu Lys Thr Met Glu Ser Gln Ser Ala Pro Val Gln
195 200 205

gag ctt act cag aat ctt aag aga gct gaa ggt ttc ttg cat ttc ata 672
Glu Leu Thr Gln Asn Leu Lys Arg Ala Glu Gly Phe Leu His Phe Ile
210 215 220

ctt cag aat gca cct att gtt atg ggc cat cag gtaaagtaaa aggtgattct 725
Leu Gln Asn Ala Pro Ile Val Met Gly His Gln
225 230 235

tgatcttgtt ttcgatcttt tcgacttttc tgattctttg ttacttatga gtttcag 782

gat aaa gat tta cgc tac ttg ttc atc tac aac aag tat cct agt tta 830
Asp Lys Asp Leu Arg Tyr Leu Phe Ile Tyr Asn Lys Tyr Pr Ser Leu
240 245 250

cgg gaa cag gttagaagaa aacttttct tctgttggat ttattgaatc 879
Arg Glu Gln

attctcttga ggaaatgtgt ttaaatcaaa atctgtttct tactatattt cag gac 935
Asp
255

att ttg gga aaa aca gac gtg gag ata ttc cat gga ggt gga gtt aaa 983
Ile Leu Gly Lys Thr Asp Val Glu Ile Phe His Gly Gly Gly Val Lys
260 265 270

gaa tct gaa gat ttc aag aga gaa gtt ctt gag aaa gga aaa gct tca 1031
Glu Ser Glu Asp Phe Lys Arg Glu Val Leu Glu Lys Gly Lys Ala Ser
275 280 285

aag aga gaa atc aca ttt act aca gat tta ttt gga tca aag acg ttt 1079
Lys Arg Glu Ile Thr Phe Thr Thr Asp Leu Phe Gly Ser Lys Thr Phe
290 295 300

ttg ata tat gtt gag cct gtt tac aac aaa gct ggc gag aaa atc ggt 1127
Leu Ile Tyr Val Glu Pro Val Tyr Asn Lys Ala Gly Glu Lys Ile Gly
305 310 315

ata aac tac atg gga atg gaa gta act gat cag gttagttagc taaagatttt 1180
Ile Asn Tyr Met Gly Met Glu Val Thr Asp Gln
320 325 330

tgaactattc tataatctat gttctcattt tcacatcttc actggatctt cctgtgttac 1240
ag gta gtg aaa agg gag aaa atg gcg aaa ctt aga gaa gat aac gct 1287

Val Val Lys Arg Glu Lys Met Ala Lys Leu Arg Glu Asp Asn Ala
335 340 345

gtg aga aag gcg atg gaa tca gaa ctg aac aag act att cac att aca 1335
Val Arg Lys Ala Met Glu Ser Glu Leu Asn Lys Thr Ile His Ile Thr
350 355 360

g gtttgttcaa gttaagcact gaaagtttta gaaagattaa tgagaaaact 1386

agacttaggt gttgtgtttt ttcttttgca g ag gag aca atg aga gca aag cag 1440

Glu Glu Thr Met Arg Ala Lys Gln

365

atg cta gcg acg atg tct cat gag ata agg tca cca ttg tca gga gta 1488

Met Leu Ala Thr Met Ser His Glu Ile Arg Ser Pro Leu Ser Gly Val

370 375 380 385

gtg gga atg gct gag ata ctt tca act aca aaa ctg gat aaa gag caa 1536

Val Gly Met Ala Glu Ile Leu Ser Thr Thr Lys Leu Asp Lys Glu Gln

390 395 400

aga cag ttg ttg aat gtc atg atc tct tct ggt gat ttg gtg ctt cag 1584

Arg Gln Leu Leu Asn Val Met Ile Ser Ser Gly Asp Leu Val Leu Gln

405 410 415

cta atc aac gac att ctt gat ctc tcc aag gtt gaa tca g gtacaatata 1634

Leu Ile Asn Asp Ile Leu Asp Leu Ser Lys Val Glu Ser

420 425 430

ctgttttcaa agtttttgat cttgtggtgt ggtcattgtt caaatcctcg attacatatg 1694

ttatttttg gtatttgtgt gttcttttta g gt gtg atg aga tta gaa gct aca 1748

Gly Val Met Arg Leu Glu Ala Thr

435

aag ttt cga cca aga gaa gta gtg aag cat gtg cta cag aca gct gca 1796

Lys Phe Arg Pro Arg Glu Val Val Lys His Val Leu Gln Thr Ala Ala

440 445 450

gca tcg ctg aag aaa tct ttg aca tta gaa gga aac att gca gat gat 1844

Ala Ser Leu Lys Lys Ser Leu Thr Leu Glu Gly Asn Ile Ala Asp Asp

455 460 465 470

gtt cct att gag gttactacac atttcagaaa gagttaaatg tggcaaaagt 1896

Val Pro Ile Glu

ctttgtgatc ttaacttttt ttcctttaaa tgtttag gta gtt gga gat gtt 1948
Val Val Gly Asp Val
475

cta agg att agg cag atc ctc acc aat ttg ata ag gttctttacc 1993
Leu Arg Ile Arg Gln Ile Leu Thr Asn Leu Ile Ser
480 485 490

tgattcctgt attatttgca taatgacaag ttttggttcc tgatttgttc aaacgttttg 2053

cag c aat gct atc aag ttt aca cat gaa gga aat gta gga atc aaa 2099
Asn Ala Ile Lys Phe Thr His Glu Gly Asn Val Gly Ile Lys
495 500 505

ctc caa gtg ata tca gaa cca tcc ttt gtg cgg gat aac gca ttg aac 2147
Leu Gln Val Ile Ser Glu Pro Ser Phe Val Arg Asp Asn Ala Leu Asn
510 515 520

gca gac acc gag gaa cac gaa caa aac ggt ttg acc gag act tca gtt 2195
Ala Asp Thr Glu Glu His Glu Gln Asn Gly Leu Thr Glu Thr Ser Val
525 530 535

tgg att tgc tgt gac gta tgg gac act gga att gga atc cca 2237
Trp Ile Cys Cys Asp Val Trp Asp Thr Gly Ile Gly Ile Pro
540 545 550

g gcaagcaagc aattctgaca aatgaacatg aaaagactaa aaaactccaa 2288

ctaacctata tattaacctg gttcatgttt tggtgttctt gtgcag aa aac 2339
Glu Asn

gct ctt cca tgt ttg ttc aag aag tac atg caa gca agc gct gat cat 2387
Ala Leu Pro Cys Leu Phe Lys Lys Tyr Met Gln Ala Ser Ala Asp His
555 560 565

gcc cga aaa tac ggt ggg act ggt ctc gga ctt gct att tgt aaa cag 2435
Ala Arg Lys Tyr Gly Gly Thr Gly Leu Gly Leu Ala Ile Cys Lys Gln
570 575 580 585

ctg gtaagctatt attaggattt tacaacacta cagaagaaac taatgaagct 2488

Leu

cgttatccta atctttctct gtttgtttac ag gtt gag tta atg gga ggc caa 2541

Val Glu Leu Met Gly Gly Gln

590

ctc act gtg aca agc cgg gtg aac gaa ggt tca acg ttc aca ttt ata 2589

Leu Thr Val Thr Ser Arg Val Asn Glu Gly Ser Thr Phe Thr Phe Ile

595 600 605

tta ccc tac aaa gtt gga aga tca gat gat tat tca gat gat caa gat 2637

Leu Pro Tyr Lys Val Gly Arg Ser Asp Asp Tyr Ser Asp Asp Gln Asp

610 615 620 625

gag ttc tct gat atg gcg gat caa caa tct gaa cca gac gat aca gct 2685

Glu Phe Ser Asp Met Ala Asp Gln Gln Ser Glu Pro Asp Asp Thr Ala

630 635 640

gaa gga tat ttc cag ttt aaa ccg ctc tta gga tcg ata tat tcg aat 2733

Glu Gly Tyr Phe Gln Phe Lys Pro Leu Leu Gly Ser Ile Tyr Ser Asn

645 650 655

ggc gga ccg ggg atc agc aat gac ttc tta cct cat aaa gtc atg ctt 2781

Gly Gly Pro Gly Ile Ser Asn Asp Phe Leu Pro His Lys Val Met Leu

660 665 670

act agt cct att aag ctc atc aat ggt ttt gtc gct gat ccc tct aac 2829

Thr Ser Pro Ile Lys Leu Ile Asn Gly Phe Val Ala Asp Pro Ser Asn

675 680 685

aac act gga cag agc gag atg cta cag ctt gaa aac ggt ggt tac atg 2877

Asn Thr Gly Gln Ser Glu Met Leu Gln Leu Glu Asn Gly Gly Tyr Met

690 695 700 705

gat gaa tct aaa ctc gaa acc agt tct ggt cat tgc cct gaa tca gct 2925

Asp Glu Ser Lys Leu Glu Thr Ser Ser Gly His Cys Pro Glu Ser Ala

710 715 720

cac caa tat gag aat gga aat ggt cga tgt ttc tct aag gaa tct gaa 2973
His Gln Tyr Glu Asn Gly Asn Gly Arg Cys Phe Ser Lys Glu Ser Glu
725 730 735

tct tgt agc agt tca caa gct agc tca gaa ggt gga acc tta gaa atg 3021
Ser Cys Ser Ser Ser Gln Ala Ser Ser Glu Gly Gly Thr Leu Glu Met
740 745 750

gag tca gag ctc aca gtt tca tct cat agg gaa gag gaa aaa gcc gag 3069
Glu Ser Glu Leu Thr Val Ser Ser His Arg Glu Glu Glu Lys Ala Glu
755 760 765

ata gaa gta aaa gaa aca tca aag cca aat att ttg ctt gtg gaa gat 3117
Ile Glu Val Lys Glu Thr Ser Lys Pro Asn Ile Leu Leu Val Glu Asp
770 775 780 785

aat aag atc aac atc atg gtt gca aag tcg atg atg aag cag tta ggc 3165
Asn Lys Ile Asn Ile Met Val Ala Lys Ser Met Met Lys Gln Leu Gly
790 795 800

cat acc atg gat att gct aat aat gga gtt gaa gcc ata acc gcg att 3213
His Thr Met Asp Ile Ala Asn Asn Gly Val Glu Ala Ile Thr Ala Ile
805 810 815

aat agc tct agc tac gat ctg gta ctc atg gtatgtaaat tttcttagct 3263
Asn Ser Ser Ser Tyr Asp Leu Val Leu Met
820 825

ctaaggactt gtccttttca aattcactta tatttgaaaa aggcttataa ttcatattgg 3323

gttcacag gat gtg tgc atg ccg gtg ctc gat ggt tta aaa gct aca 3370
Asp Val Cys Met Pro Val Leu Asp Gly Leu Lys Ala Thr
830 835 840

aga ctg atc cgt tcg tat gaa gaa act ggg aac tgg aat gct gca ata 3418
Arg Leu Ile Arg Ser Tyr Glu Glu Thr Gly Asn Trp Asn Ala Ala Ile
845 850 855

gaa gcc gga gta gat ata tcg aca tcg gag aat gaa caa gtt tgt atg 3466
Glu Ala Gly Val Asp Ile Ser Thr Ser Glu Asn Glu Gln Val Cys Met
860 865 870

cgt ccc aca aac cgg ctg cct ata atc gcg gtcagtactt ctttttcgaa 3516
Arg Pro Thr Asn Arg Leu Pro Ile Ile Ala
875 880

tactaaacac agagatctaa tgcataactt gagaaaactg atagtcagaa tgcgttgtgg 3576

aatgtgcag atg acg gca aat act tta gca gag agt tca gaa gaa tgt 3624
Met Thr Ala Asn Thr Leu Ala Glu Ser Ser Glu Glu Cys
885 890 895

tat gca aat ggt atg gac tcg ttt att tcg aaa cct gta acg ttg caa 3672
Tyr Ala Asn Gly Met Asp Ser Phe Ile Ser Lys Pro Val Thr Leu Gln
900 905 910

aaa ctg aga gag tgt ttg caa cag tat ttg cac tga 3708
Lys Leu Arg Glu Cys Leu Gln Gln Tyr Leu His ***
915 920

【００６８】

〈２１０〉６

〈２１１〉９２２

〈２１２〉PRT

〈２１３〉Arabidopsis thariana

〈２２３〉Amino acid sequence of histidine protein kinese

〈４００〉６

Met Val Cys Glu Met Glu Thr Asp Gln Ile Glu Glu Met Asp Val Glu
1 5 10 15

Val Leu Ser Ser Met Trp Pro Glu Asp Val Gly Thr Glu Ala Asp Lys
20 25 30

Gln Phe Asn Val Glu Lys Pr Ala Gly Asp Leu Asp Thr Leu Lys Glu
35 40 45

Val Thr Ile Glu Thr Arg Thr Ile Ala Asp Met Thr Arg Leu Pro Asn
50 55 60
Leu Leu Asn Ser Thr His Gln Gly Ser Ser Gln Leu Thr Asn Leu Val
65 70 75 80
Lys Gln Trp Glu Tyr Met Gln Asp Asn Ala Val Arg Leu Leu Lys Glu
85 90 95
Glu Leu Lys Asn Leu Asp Arg Gln Arg Glu Glu Ala Glu Ala Lys Glu
100 105 110
Leu Lys Ile Ile Glu Glu Tyr Lys Phe Glu Ser Asn Glu Pro Glu Asn
115 120 125
Val Pro Val Leu Asp Glu Thr Ser Asp Leu Phe Arg Arg Phe Arg Gln
130 135 140
Lys Lys Arg Asp Ala Leu Val Asp Ser Lys Lys Ile Glu Ile Tyr Glu
145 150 155 160
Glu Phe Asp Thr Val Ala Tyr Trp Lys Gln Lys Ala Leu Ser Leu Glu
165 170 175
Lys Met Leu Glu Ala Ser Thr Glu Arg Glu Arg Arg Leu Met Glu Lys
180 185 190
Leu Ser Glu Ser Leu Lys Thr Met Glu Ser Gln Ser Ala Pro Val Gln
195 200 205
Glu Leu Thr Gln Asn Leu Lys Arg Ala Glu Gly Phe Leu His Phe Ile
210 215 220

Leu Gln Asn Ala Pro Ile Val Met Gly His Gln Asp Lys Asp Leu Arg
225 230 235 240
Tyr Leu Phe Ile Tyr Asn Lys Tyr Pro Ser Leu Arg Glu Gln Asp Ile
245 250 255
Leu Gly Lys Thr Asp Val Glu Ile Phe His Gly Gly Gly Val Lys Glu
260 265 270

Ser Glu Asp Phe Lys Arg Glu Val Leu Glu Lys Gly Lys Ala Ser Lys
275 280 285
Arg Glu Ile Thr Phe Thr Thr Asp Leu Phe Gly Ser Lys Thr Phe Leu
290 295 300
Ile Tyr Val Glu Pro Val Tyr Asn Lys Ala Gly Glu Lys Ile Gly Ile
305 310 315 320
Asn Tyr Met Gly Met Glu Val Thr Asp Gln Val Val Lys Arg Glu Lys
325 330 335
Met Ala Lys Leu Arg Glu Asp Asn Ala Val Arg Lys Ala Met Glu Ser
340 345 350
Glu Leu Asn Lys Thr Ile His Ile Thr Glu Glu Thr Met Arg Ala Lys
355 360 365
Gln Met Leu Ala Thr Met Ser His Glu Ile Arg Ser Pro Leu Ser Gly
370 375 380
Val Val Gly Met Ala Glu Ile Leu Ser Thr Thr Lys Leu Asp Lys Glu
385 390 395 400
Gln Arg Gln Leu Leu Asn Val Met Ile Ser Ser Gly Asp Leu Val Leu
405 410 415
Gln Leu Ile Asn Asp Ile Leu Asp Leu Ser Lys Val Glu Ser Gly Val
420 425 430
Met Arg Leu Glu Ala Thr Lys Phe Arg Pro Arg Glu Val Val Lys His
435 440 445

Val Leu Gln Thr Ala Ala Ala Ser Leu Lys Lys Ser Leu Thr Leu Glu
450 455 460
Gly Asn Ile Ala Asp Asp Val Pro Ile Glu Val Val Gly Asp Val Leu
465 470 475 480
Arg Ile Arg Gln Ile Leu Thr Asn Leu Ile Ser Asn Ala Ile Lys Phe
485 490 495

Thr His Glu Gly Asn Val Gly Ile Lys Leu Gln Val Ile Ser Glu Pro
500 505 510
Ser Phe Val Arg Asp Asn Ala Leu Asn Ala Asp Thr Glu Glu His Glu
515 520 525
Gln Asn Gly Leu Thr Glu Thr Ser Val Trp Ile Cys Cys Asp Val Trp
530 535 540
Asp Thr Gly Ile Gly Ile Pro Glu Asn Ala Leu Pro Cys Leu Phe Lys
545 550 555 560
Lys Tyr Met Gln Ala Ser Ala Asp His Ala Arg Lys Tyr Gly Gly Thr
565 570 575
Gly Leu Gly Leu Ala Ile Cys Lys Gln Leu Val Glu Leu Met Gly Gly
580 585 590
Gln Leu Thr Val Thr Ser Arg Val Asn Glu Gly Ser Thr Phe Thr Phe
595 600 605
Ile Leu Pro Tyr Lys Val Gly Arg Ser Asp Asp Tyr Ser Asp Asp Gln
610 615 620
Asp Glu Phe Ser Asp Met Ala Asp Gln Gln Ser Glu Pro Asp Asp Thr
625 630 635 640
Ala Glu Gly Tyr Phe Gln Phe Lys Pro Leu Leu Gly Ser Ile Tyr Ser
645 650 655
Asn Gly Gly Pro Gly Ile Ser Asn Asp Phe Leu Pro His Lys Val Met
660 665 670

Leu Thr Ser Pro Ile Lys Leu Ile Asn Gly Phe Val Ala Asp Pro Ser
675 680 685
Asn Asn Thr Gly Gln Ser Glu Met Leu Gln Leu Glu Asn Gly Gly Tyr
690 695 700
Met Asp Glu Ser Lys Leu Glu Thr Ser Ser Gly His Cys Pro Glu Ser
705 710 715 720

Ala His Gln Tyr Glu Asn Gly Asn Gly Arg Cys Phe Ser Lys Glu Ser
725 730 735
Glu Ser Cys Ser Ser Ser Gln Ala Ser Ser Glu Gly Gly Thr Leu Glu
740 745 750
Met Glu Ser Glu Leu Thr Val Ser Ser His Arg Glu Glu Glu Lys Ala
755 760 765
Glu Ile Glu Val Lys Glu Thr Ser Lys Pro Asn Ile Leu Leu Val Glu
770 775 780
Asp Asn Lys Ile Asn Ile Met Val Ala Lys Ser Met Met Lys Gln Leu
785 790 795 800
Gly His Thr Met Asp Ile Ala Asn Asn Gly Val Glu Ala Ile Thr Ala
805 810 815
Ile Asn Ser Ser Ser Tyr Asp Leu Val Leu Met Asp Val Cys Met Pro
820 825 830
Val Leu Asp Gly Leu Lys Ala Thr Arg Leu Ile Arg Ser Tyr Glu Glu
835 840 845
Thr Gly Asn Trp Asn Ala Ala Ile Glu Ala Gly Val Asp Ile Ser Thr
850 855 860
Ser Glu Asn Glu Gln Val Cys Met Arg Pro Thr Asn Arg Leu Pro Ile
865 870 875 880
Ile Ala Met Thr Ala Asn Thr Leu Ala Glu Ser Ser Glu Glu Cys Tyr
885 890 895

Ala Asn Gly Met Asp Ser Phe Ile Ser Lys Pro Val Thr Leu Gln Lys
900 905 910
Leu Arg Glu Cys Leu Gln Gln Tyr Leu His
915 920

【００６９】

〈２１０〉 7

〈２１１〉 32

〈２１２〉DNA

〈２１３〉Artificial sequence

〈２２０〉

〈２２１〉

〈２２２〉

〈２３３〉Primer No. 163

〈４００〉７

cgcggatcca ccatggtctg tgaaatggag ac 32

【００７０】

〈２１０〉８

〈２１１〉32

〈２１２〉DNA

〈２１３〉Artificial sequence

〈２２０〉

〈２２１〉

〈２２２〉

〈２３３〉Primer No. 154

〈４００〉８

ccgctcgagt cagtgcaaat actgttgcaa ac 32

【００７１】

〈２１０〉９

〈２１１〉31

〈２１２〉DNA

〈２１３〉Artificial sequence

〈２２０〉

〈２２１〉

〈２２２〉

〈２３３〉Primer No. 177

〈４００〉９

ggggtacctc agtgcaaata ctgttgcaaa c 31

【００７２】

<２１０> 10

<２１１> 33

<２１２> DNA

<２１３> Artificial sequence

<２２０>

<２２１>

<２２２>

<２３３> Primer No. 271

<４００> 10

tacccggggg taccgtcgac ctgcaggcat gcc 33

【００７３】

<２１１> 11

<２１１> 32

<２１２> DNA

<２１３> Artificial sequence

<２２０>

<２２１>

<２２２>

<２３３> Primer No. 272

<４００> 11

aaacgacggc cagtgaattc gagttcggca cc 32

【００７４】

<２１０> 12

<２１１> 31

<２１２> DNA

<２１３> Artificial sequence

<２２０>

〈２２１〉

〈２２２〉

〈２３３〉Primer No. 162

〈４００〉12

cgcggatcca ccatgcttga ggcgagtact g 31

【図面の簡単な説明】

【図１】

図１は、プラスミドｐＢＩ３５Ｔの構造を示す略図である。

【図２】

図２は、プラスミドｐＢＩ３５Ｔ．ＣＫ１２．１６３の構造を示す略図である。

【図３】

図３は、プラスミドｐＢＩ３５Ｔ．ＣＫ１２．１６２の構造を示す略図である。

【図４】

図４は、プラスミドｐＥＬ２　ｏｍｅｇａ３５Ｔの構造を示す略図である。

【図５】

図５は、プラスミドｐＥＬ２　ｏｍｅｇａ３５Ｔ．ＣＫ１２．１６３の構造を示す略図である。

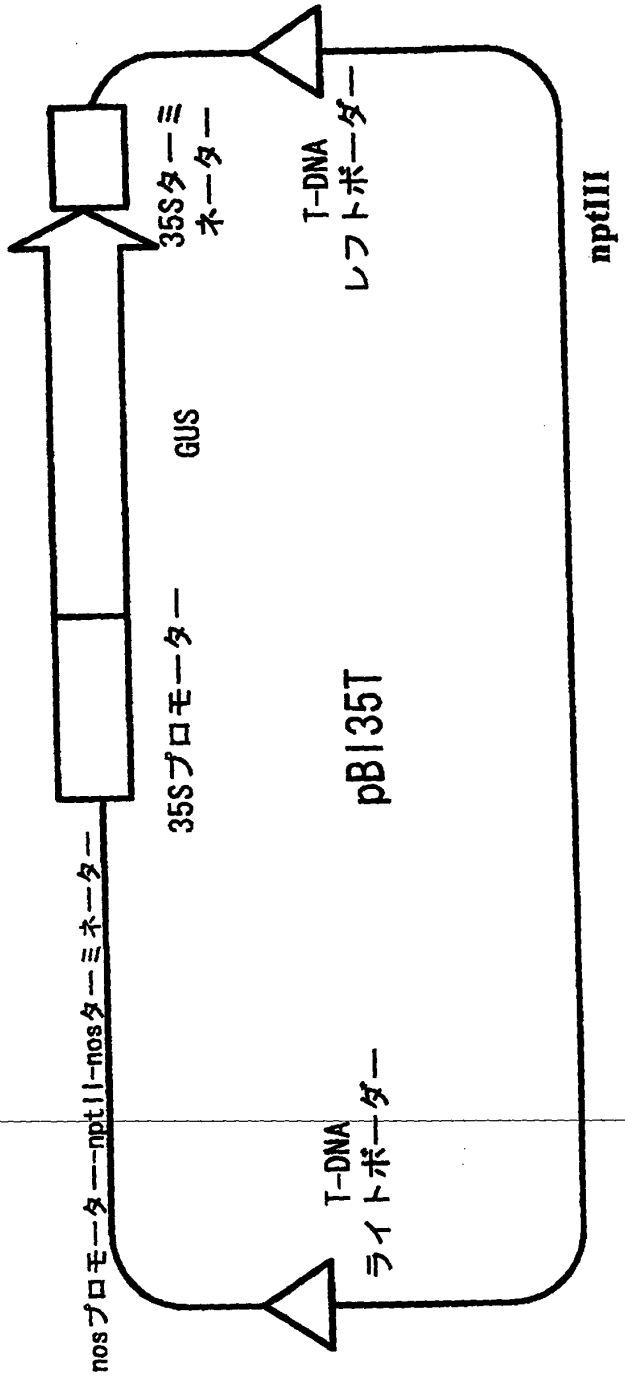
【図６】

図６は、プラスミドｐＥＬ２　ｏｍｅｇａ３５Ｔ．ＣＫ１２．１６２の構造を示す略図である。

【書類名】　図面

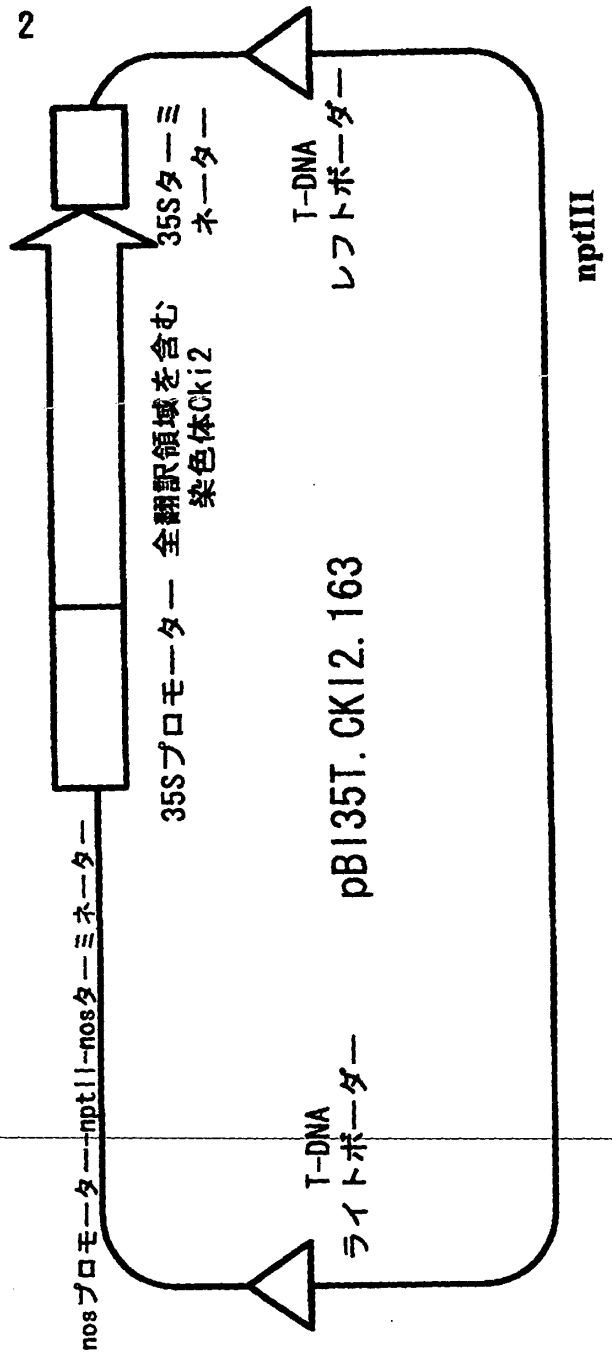
【図１】

図 1


35Sターミネーター
T-DNA
レフトボーダー
nptIII
GUS
35Sプロモーター
pBI35T
nosプロモーター--nptII-nosターミネーター
T-DNA
ライトボーダー

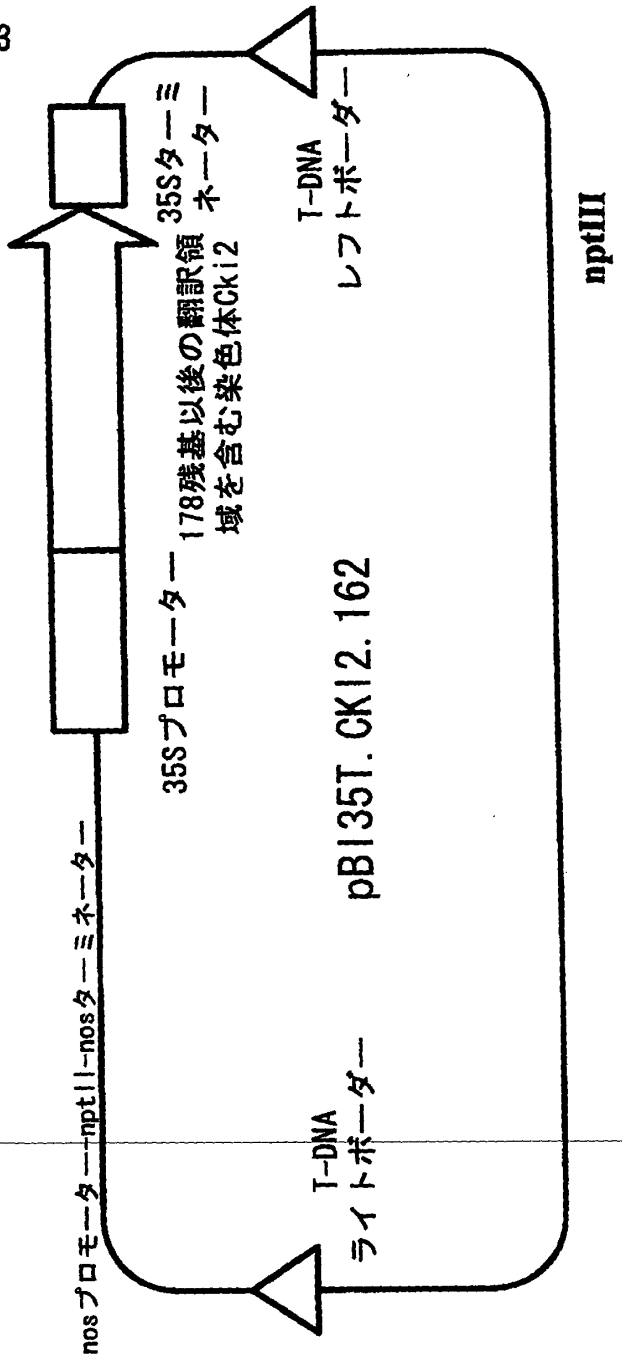
【図２】

図 2


nosプロモーター
nptII
nosターミネーター
35Sプロモーター
全翻訳領域を含む
染色体Cki2
35Sターミネーター
T-DNA
ライトボーダー
pBI35T.CKI2.163
T-DNA
レフトボーダー
nptIII

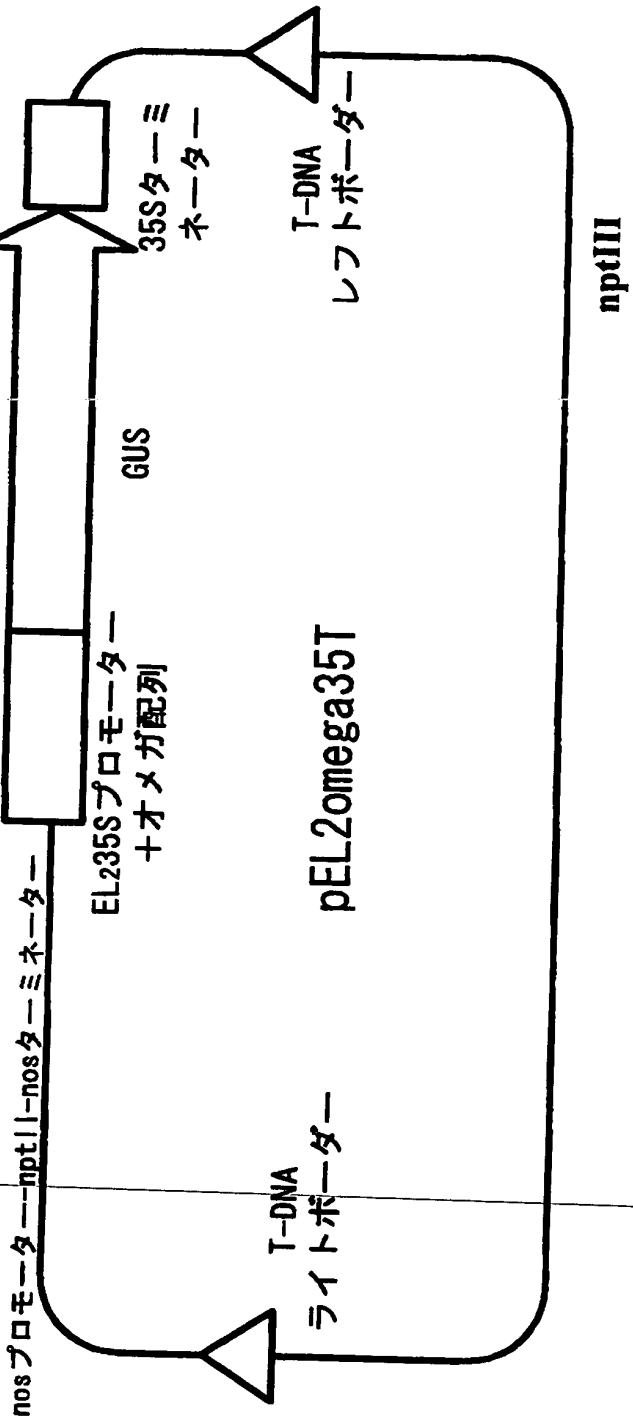
【図３】

図 3


35Sプロモーター
178残基以後の翻訳領域を含む染色体Cki2
35Sターミネーター
T-DNA
レフトボーダー
nptIII
pBI35T.CKI2.162
T-DNA
ライトボーダー
nosプロモーター—nptII-nosターミネーター

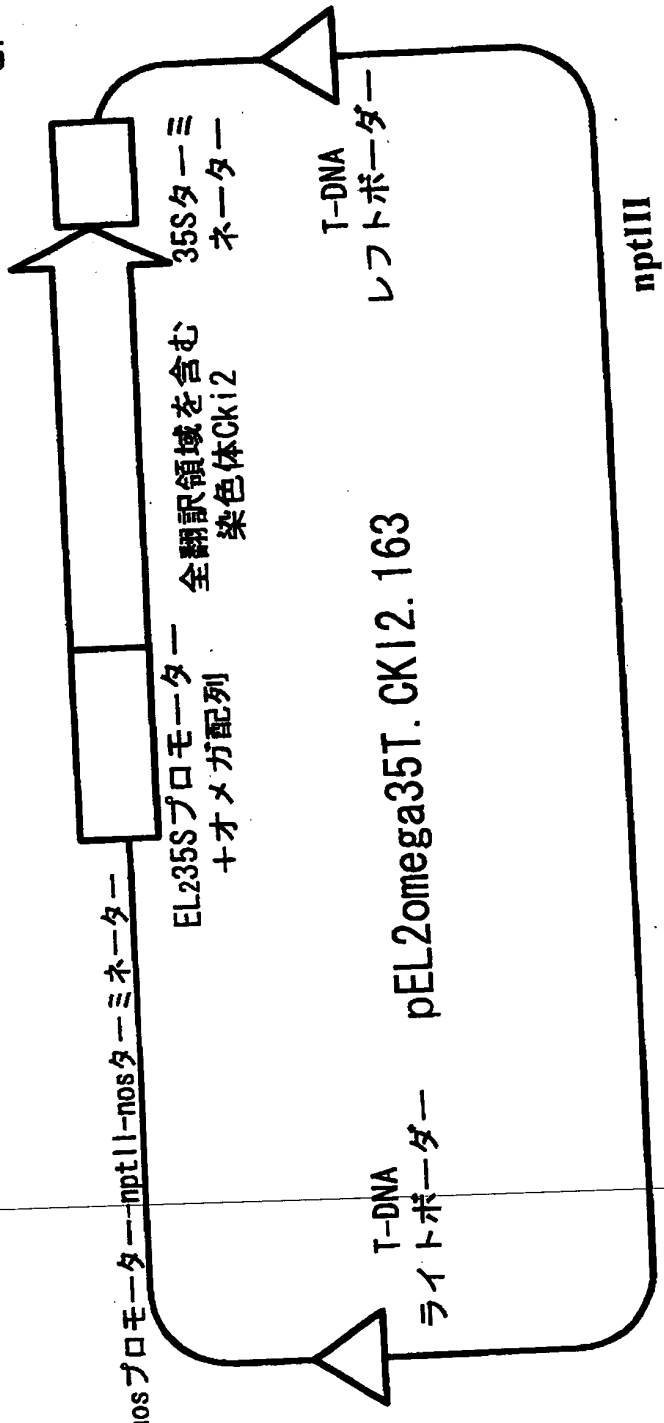
【図４】

図 4


nosプロモーター—nptII—nosターミネーター
EL2 35Sプロモーター
＋オメガ配列
GUS
35Sターミネーター
T-DNA
ライトボーダー
pEL2omega35T
T-DNA
レフトボーダー
nptIII

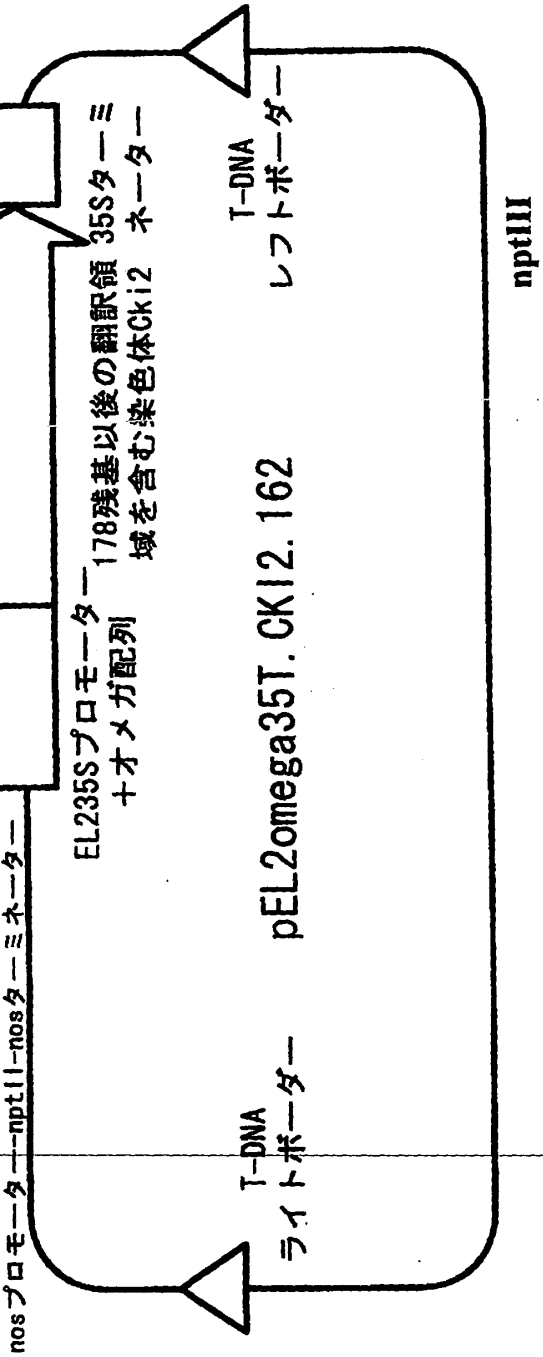
【図５】

図 5


nosプロモーター—nptII-nosターミネーター
EL2 35Sプロモーター＋オメガ配列
全翻訳領域を含む染色体Cki2
35Sターミネーター
T-DNA レフトボーダー
nptIII
pEL2omega35T. CK12. 163
T-DNA ライトボーダー

【図６】

図 6


nosプロモーター
nptII-nosターミネーター
EL235Sプロモーター
＋オメガ配列
178残基以後の翻訳領域を含む
35Sターミネーター
Cki2染色体
T-DNA
ライトボーダー
pEL2omega35T. CK12. 162
T-DNA
レフトボーダー
nptIII

【書類名】　　要約書

【要約】

【課題】　サイトカイニンの情報伝達に関与する新規な蛋白質をコードする遺伝子及びその用途の提供。

【解決手段】　例えばシロイヌナズナ（Arabidopsis thaliana）に由来し、配列番号：２に示すようなアミノ酸配列を有し、サイトカイニンの情報伝達に関与する蛋白質をコードする遺伝子が提供される。この遺伝子は、前記蛋白質の製造のために利用できるほか、植物に導入することにより、植物の再生、分化、成長等のために利用できる。

【選択図】　　なし

出 願 人 履 歴 情 報

識別番号　〔０００００１９０４〕

１．変更年月日　１９９０年　８月１３日
［変更理由］　新規登録
住　所　大阪府大阪市北区堂島浜２丁目１番４０号
氏　名　サントリー株式会社

出 願 人 履 歴 情 報

識別番号　　〔０００１８３４８４〕

１．変更年月日　　１９９３年　４月　７日
［変更理由］　名称変更
住　所　東京都北区王子１丁目４番１号
氏　名　日本製紙株式会社